

**EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**DTPA BAĞLI TOREMIFENE'İN <sup>99m</sup>Tc İLE  
İŞARETLENEREK RADYOFARMASÖTİK  
POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ**

**Ayfer YURT**

**Nükleer Bilimler Anabilim Dalı**

**Bilim Dalı Kodu : 622.02.01**

**Sunuş Tarihi : 27.12.2007**

**Tez Danışmanı: Yard. Doç. Dr. F. Zümrüt BİBER MÜFTÜLER**

**Bornova, İZMİR**

Sayın Ayfer YURT tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak sunulan “DTPA Bağlı Toremifene’in <sup>99m</sup>Tc ile İşaretlenerek Radyofarmasötik Potansiyelinin İncelenmesi” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve ..... tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

-

**Jüri Üyeleri:****İmza**

Jüri Başkanı : .....

.....

Raportör Üye: .....

.....

Üye : .....

.....



**ÖZET****DTPA BAĞLI TOREMIFENE'İN <sup>99m</sup>Tc İLE İŞARETLENEREK  
RADYOFARMASÖTİK POTANSİYELİNİN İNCELENMESİ****YURT, Ayfer****Yüksek Lisans Tezi, Nükleer Bilimler Anabilim Dalı****Tez Yöneticisi : Yard. Doç. Dr. F. Zümrüt BİBER MÜFTÜLER****Aralık 2007, 67 sayfa**

Toremifene [TOR; 4-chloro-1,2-diphenyl-1- (4- (2- (N,N-di-methylamino) ethoxy) phenyl)-1-butene] meme ve rahim kanserlerinin tedavisinde sitrat formda kullanılan bir antiestrogenik ajandır.

Bu çalışmada estrogen reseptörlerince zengin (ER+) meme tümörlerini görüntülemeye kullanılabilecek yeni bir antiestrogen türevi hidrofilik bir radyoligand tasarlamak ve bu radyoligandın radyofarmasötik potansiyelini saptamak amaçlanmıştır.

Bu amaçla sitrat formundaki TOR tabletlerinden ekstraksiyon yöntemiyle saf TOR bileşiği elde edilmiştir ve bileşiğe inert atmosfer altında hidrofilik bir grup olan dietilentriamin pentaasetik asit (DTPA) takılıp, yapı hidrofilik hale getirilerek bileşiğin estrogen reseptörlerine (ER) afinitesini arttırmak amaçlanmıştır.

Sentez basamaklarına ilişkin sonuçlar, İnce Tabaka Kromatografi (TLC) ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Sentez ürünü (3Z)-4- {4- [2-(dimethylamino) ethoxy] phenyl} -3,4-diphenylbut-3-en-1-yl N,N-bis [2 (2,6 dioxomorpholin-4-yl)

ethyl] glycinate (TOR-DTPA) şeklinde adlandırılmıştır. Yapı analizi ise Gaz Kromatografi / Kütle Spektrometre (GS – MS / MS) ile yapılmıştır.

TOR-DTPA  $^{99m}\text{Tc}$  radyonüklidi ile kalay klorür indirgeme yöntemine göre işaretlenmiştir. Bağlanma verimi İnce Tabaka Radyo Kromatografi (TLRC) ve kağıt elektroforezi yöntemleri kullanılarak % 95'in üzerinde belirlenmiştir. Biyodağılım çalışmaları dışı Albino Wistar sıçanlar üzerinde gerçekleştirilmiş gram doku başına enjekte edilen doz değerleri hesaplanarak zamanla değişimi incelenmiştir. Tüm deneysel veriler SPSS 13 programı kullanılarak istatistiksel değerlendirme yapılmıştır.

$^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin meme dokusu üzerinde ER spesifik olduğu ve ER+ meme tümörlerini görüntülemeye yeni bir antiestrogen türevi hidrofilik radyoligand olarak kullanılabilirliği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Antiestrogen türevi radyofarmasötikler, Toremifene, DTPA,  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA, ER+ meme tümörü.

**ABSTRACT****TOREMIFENE OF ATTACHED DTPA TO LABEL WITH <sup>99m</sup>Tc AND  
INVESTIGATION OF ITS RADIOPHARMACEUTICAL POTENTIAL**

*YURT, Ayfer*

*Master Thesis in Nuclear Sciences*

**Supervisor : Yard. Doç. Dr. F. Zümrüt BİBER MÜFTÜLER**

**December 2007, 67 pages**

Toremifene [TOR; 4-chloro-1,2-diphenyl-1-(4-(2-(N,N-di-methylamino)ethoxy) phenyl)-1-butene] is an antiestrogenic agent, the citrate form of which is used in the treatment of breast and uterus cancer.

The aim of this study is to design a new antiestrogen derivative hydrophilic radioligand for imaging ER+ breast tumours and to investigate its radiopharmaceutical potential.

For this purpose, TOR is extracted from citrate of the tablets and under inert atmosphere a hydrophilic diethylenetriamine pentaacetic acid (DTPA) is conjugated to TOR to increase estrogen receptor (ER) affinity for labelling with <sup>99m</sup>Tc.

Results related to synthesis steps are evaluated with Thin Layer Chromatography (TLC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The synthesis product is called (TOR-DTPA) (3Z)-4-{4-[2-(dimethylamino)ethoxy]phenyl}-3,4-diphenylbut-3-en-1-yl N,N-bis[2-(2,6-dioxomorpholin-4-yl)ethyl]glycinate. Structural analysis is performed with Gas Chromatography / Mass Spectrometry (GS – MS/MS).

## VIII

TOR-DTPA is labelled with  $^{99m}\text{Tc}$  using stannous chloride reducing method. The binding efficiency is determined with Thin Layer Radio Chromatography (TLRC) and paper electrophoresis methods ( $\% 95 \leq$ ). The biodistribution studies are performed on female Albino Wistar rats. The injected dose per gram tissue is calculated and time-activity curves are examined. All the experimental data are evaluated using statistical SPSS 13 program.

$^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA showed ER specificity especially in breast tissue and may be used for imaging ER+ breast tumour as a novel antiestrogen derivative hydrophilic radioligand.

**Keywords:** Antiestrogen derivative radiopharmaceuticals, Toremifene, DTPA,  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA, ER+ breast tumour.

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmalarım sırasında her türlü destek ve yardımlarından yararlandığım Tez Danışmanım Sayın Yard. Doç. Dr. F. Zümrüt BİBER MÜFTÜLER'e, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Perihan ÜNAK'a, enstitü laboratuvarlarında her türlü çalışma olanağını sağlayan Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü Müdürü Sayın Prof. Dr. Meral ERAL'e, başta deneylerimde dostluğunu ve yardımseverliğini esirgmeden yardımcı olan Çiğdem ACAR olmak üzere, her türlü maddi ve manevi desteği esirgemeyen aileme ve her zaman büyük özveriyle yanımda olan arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayfer YURT

**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
TEŞEKKÜR.....	IX
İÇİNDEKİLER.....	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XVII
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	XIX
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Kanser ve Meme Kanseri.....	5
2.2 Hormonlar ve Steroid Hormonlar.....	6
2.2.1 Estrojenler.....	6
2.2.2 Estrojen ve meme kanseri.....	8
2.3 Antiöstrojenler ve Selektif Estrojen Reseptör Modölatörleri (SERMs).....	9
2.3.1 Toremifene (TOR).....	10

2.4 Radyoişaretli Antiöstrojenler.....	12
2.5 Teknesyum-99m ( <sup>99m</sup> Tc) kimyası.....	14
2.5.1 Teknesyum Radyofarmasötiklerinde Kullanılan Kalite Kontrol Yöntemleri.....	15
2.5.1.1 İnce tabaka kromatografisi (Thin layer chromatography).....	16
2.5.1.2 Kağıt elektroforezi.....	17
2.5.1.3 Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC).....	17
3. MATERYAL VE METOD.....	19
3.1 Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar.....	19
3.1.1 Kullanılan kimyasallar.....	19
3.1.2 Kullanılan cihazlar.....	20
3.2 Kimyasal Sentez Basamakları.....	21
3.2.1 TOR (Sitrak) bileşiğinin ekstraksiyon yöntemi ile saflaştırılması.....	21
3.2.2 TOR-DTPA bileşiğinin elde edilmesi.....	22
3.3 İnaktif Bileşenler (TOR, DTPA, TOR-DTPA) İçin Kullanılan Kromatografik Yöntemler.....	25
3.3.1 TLC yöntemi.....	25
3.3.2 HPLC yöntemi.....	25
3.4 Yapı Analizi.....	26
3.5 İşaretleme Yöntemi.....	27
3.5.1 <sup>99m</sup> Tc-DTPA çözeltisinin hazırlanması.....	27

### XIII

3.5.2 <sup>99m</sup> Tc-TOR-DTPA çözeltisinin hazırlanması.....	27
3.6 Radyoışaretleli Bileşiklerin Kalite Kontrolünde Kullanılan Yöntemler.....	28
3.6.1 Kağıt elektroforezi yöntemi.....	28
3.6.2 İnce tabaka radyo kromatografisi (TLRC) yöntemi.....	29
3.7 n-Octanol / Su Oranının Bulunması (Lipofilite).....	29
3.8 Serumda Stabilite.....	30
3.9 Dişi Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Yapılan Biyodağılım Çalışmaları.....	30
3.10 İstatistiksel Analizler.....	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	32
4.1 İnaktif Bileşenler (TOR, DTPA, TOR-DTPA) İçin Kullanılan Kromatografik Yöntem Sonuçları.....	32
4.1.1 TLC yöntemi ile elde edilen R <sub>f</sub> (relatif front) sonuçları.....	32
4.1.2 HPLC yöntemi ile elde edilen kromatogramlar.....	32
4.2 Moleküler Yapının Belirlenmesi.....	34
4.3 Radyoışaretleli Bileşiklerin Kalite Kontrol Sonuçları.....	37
4.3.1 Kağıt elektroforezi ile elde edilen sonuçlar.....	37
4.3.2 TLRC ile elde edilen sonuçlar.....	38
4.4 n-Octanol / Su Oranı (Lipofilite) Sonuçları.....	41

## XIV

4.5 Serumda Stabilité Sonuçları.....	42
4.6 Dişi Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Yapılan Biyodağılım alışmalarının Sonuçları.....	43
4.6.1 Sıçanlar üzerinde reseptör doyurma çalışmasının yapılmadığı (reseptörsüz) biyodağılım sonuçları ( <sup>99m</sup> Tc-TOR-DTPA).....	43
4.6.2 Sıçanlar üzerinde reseptör doyurma çalışmasının yapıldığı (reseptörlü) biyodağılım sonuçları ( <sup>99m</sup> Tc-Res-TOR-DTPA).....	45
4.7 İstatistik Analiz Sonuçları.....	52
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	54
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	55
ÖZGEÇMİŞ.....	67

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Estrojen hedef dokuları.....	7
2.2 ER+ ve ER-'lerin hücre içindeki davranışı.....	7
2.3 Mutajenik hücrelerin estrojen uyarımı ile davranışları.....	8
2.4 TAM ile TOR bileşiklerinin moleküler yapısı.....	10
3.1 TOR (siträt) bileşğinin ekstaksiyon yöntemi ile saflaştırılması.....	22
3.2 TOR-DTPA bileşğinin sentezi sırasında kurulan düzenek sistemi.....	23
3.3 TOR-DTPA bileşğinin sentezi.....	24
4.1 TOR bileşğinin HPLC kromatogramı.....	33
4.2 DTPA bileşğinin HPLC kromatogramı.....	33
4.3 TOR-DTPA bileşğinin HPLC kromatogramı.....	34
4.4 <sup>99m</sup> Tc-DTPA bileşğinin TLRC-1 çözeltisi kullanılarak elde edilen kromatogramı.....	40
4.5 <sup>99m</sup> Tc-TOR-DTPA bileşğinin TLRC-1 çözeltisi kullanılarak elde edilen kromatogramı.....	40

## XVIII

4.6 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 'ün TLRC-1 çözeltisi kullanılarak elde edilen kromatogramı.....	41
4.7 İnd $^{99m}\text{Tc}$ 'nin TLRC-1 çözeltisi kullanılarak elde edilen kromatogramı.....	41
4.8 $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin serumda stabilitesi.....	43
4.9 $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğine ait ER'lerce zengin dokulardaki % ID / g – Bg oranı.....	45
4.10 $^{99m}\text{Tc}$ -Res-TOR-DTPA bileşiğine ait ER'lerce zengin dokulardaki % ID / g – Bg oranı.....	47
4.11 $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin rahim, yumurtalık ve meme dokularındaki % ID/g–Bg oranının zamanla değişimi.....	48
4.12 $^{99m}\text{Tc}$ -Res-TOR-DTPA bileşiğinin rahim, yumurtalık ve meme dokularındaki % ID/g–Bg oranının zamanla değişimi.	48
4.13 Rahim, yumurtalık ve meme dokularındaki reseptörsüz ve reseptörlü $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğine ait % ID / g – Bg oranı.....	49
4.14 $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin meme dokusundaki % ID/g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı.....	50

## ÇİZELGE DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 HPLC yönteminde uygulanan kromatografik koşullar.....	26
4.1 TOR, DTPA ve TOR-DTPA bileşiklerinin aseton : su (9:1) çözeltisindeki R <sub>f</sub> değerleri.....	32
4.2 TOR-DTPA bileşiğine ve çeşitli fragmanlara ait GC-MS / MS spektrumlarında gözlenen m / z değerleri.....	35
4.3 Elektroforez sonuçları.....	38
4.4 TLRC banyo çözeltileri.....	38
4.5 R <sub>f</sub> değerleri.....	39
4.6 Bileşiklerin logP değerleri.....	42
4.7 Albino Wistar sıçanlarda <sup>99m</sup> Tc-TOR-DTPA bileşiğinin % ID / g (organ) - Bg oranı verileri.....	44
4.8. Albino Wistar sıçanlarda <sup>99m</sup> Tc-Res-TOR-DTPA bileşiğinin % ID / g (organ) – Bg oranı verileri.....	46
4.9 Varyans analizi sonucuna göre bazı organlara ait reseptör ile ilişkilerine ilişkin P ve r (korelasyon katsayısı) değerleri.	53



## 1. GİRİŞ

Günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biri olan kanser; sık görülmesi ve öldürücülüğünün yüksek olması nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunudur. İstatistiklere göre her yıl dünyada 11 milyon, Türkiye’de ise 150 bin kişi kansere yakalanmaktadır (Kanser Yüğü Raporu, 2006). Kanser çeşitleri ve dağılımı incelendiğinde, kadınlarda en sık görülen tür meme kanseridir. Bir kadının hayatı boyunca meme kanserine yakalanma riski % 12.2’dir. Yani her 8 kadından biri hayatı boyunca meme kanserine yakalanabilir (Boring et al., 1993; Kalan, 2005).

Meme tümörleri estrojen reseptörü içeren (ER+) ve içermeyen (ER-) olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Meme tümör hücreleri çoğunlukla ER+’dır (Strickland et al., 1990; Skaddan et al., 2000; Van DeWiele et al., 2000). Bu reseptörlerin varlığı antiestrojen ve estrojen bloklayıcılarca hastalığın tedavisi yapılmaktadır.

Kanserle mücadele ile ilgili her geçen gün yeni araştırmalar yapılmaktadır. Uzun süren çalışmalar sonunda elde edilen gelişmelerden en ilgi çekici olanı; 1973 yılında klinik kullanıma sunulan meme kanserinde kullanılan nonsteroid yapıda bir antiestrojen ajan olan Tamoxifen (TAM)’dır (Fabian et al., 1981; Kon, 1983; Shibutani et al., 2001; Pukkala et al., 2002). TAM meme dokusu üzerine antiestrojenik etki gösterirken (Costa, 2001), serum lipidleri (Kalan, 2005), kemik (Love, 1994; Shibutani et al, 2001) ve endometrium (Strickland et al., 1990; Decensi, 1996; DeGregorio et al., 2000; Hunter and Luyt, 2000; Pukkala et al., 2002; Kim et al., 2003; Kalan, 2005) üzerine belirgin estrojenik etki göstermekte ve buna bağlı olarak TAM kullanan hastalarda endometrial patoloji gelişme riski artmaktadır.

Bazı estrogen bileşikleri hem agonist, hem de antagonist etkiye sahip olduklarından Selektif Estrogen Reseptör Modülatörü (SERM) olarak adlandırılırlar. TAM türevleri SERM kategorisindeki antiestrogen ilaçlar arasında olup, kanser hücrelerini estrojensiz bırakarak bu hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını engellemektedir (McDonnell, 1999).

Literatürde SERM kategorisindeki antiestrogen bileşiklere ilişkin  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{131}\text{I}$ , radyonüklidleri ile işaretli birçok çalışma mevcuttur (Kon, 1983; Simberg et al., 1990; Sipila et al., 1990; Strickland et al., 1990; Delpassand et al., 1996; Kruijer et al., 1997; White et al., 1997; Hunter et al., 2000; Shibutani et al., 2001; Lashley et al., 2002; John et al., 2002; Müftüler v.d., 2008).

TAM bileşiğinin rahim üzerinde gösterdiği estrogenik etki nedeniyle yeni ER spesifik ligandların geliştirilmesi oldukça önemlidir. Bir TAM türevi olan Toremifene, [TOR 4-chloro-1,2-diphenyl-1-(4-(2-(N,N-dimethylamino)ethoxy)phenyl)-1-butene] meme ve rahim kanserlerinin tedavisinde sitrat formunda kullanılan, ER+ meme tümörleri için bir antitümör ajan olup; estrogen, antiestrogen reseptörlere eğilimli bir trifeniletillen olarak tanımlanmaktadır (Sipila et al., 1988; Szamel et al., 1990; Grenman et al., 1991; Soe et al., 1997; Pukkala et al., 2002; IBCSG, 2004; Harvey et al., 2006). Shibutani ve arkadaşları (Shibutani et al., 2001) yaptıkları bir çalışmada; TOR bileşiğinin TAM bileşiğinden daha düşük gen toksisitesine sahip olduğu sonucuna varmışlar ve endometrial kanser gelişimini önleme alternatifleri arasında TOR bileşiğinin daha güvenli olacağını belirtmişlerdir. Bu düşünce ile aynı sonuca ulaşan birçok araştırmacı bulunmaktadır (Gunderson, 1990; Kivinen and Meanpaa, 1990; Sipila et al., 1990; Valavaara et al., 1990; Grenman et al., 1991; Soe et al., 1997; DeGregorio et al., 2000; Jones and Kim, 2002; Kim et al., 2003; IBCSG, 2004). TAM bileşiğinin tutulumu karaciğerde yüksektir

(Sipila et al., 1990; Strickland et al., 1990; Valavaara et al., 1990; Soe et al., 1997; Kim et al., 2003). Ancak TOR ile yapılan çalışmalar karaciğerde herhangi bir tutulum göstermemiştir (Kangas, 1990; Modig et al., 1990; Szamel et al., 1990). Bu sonuç TOR bileşiğinin daha çok tercih edilme sebeplerinden biridir. Yine bir grup araştırmacı yaptıkları çalışmada TOR türevi bir bileşiğin (FC-1271a) rahimde estrojenik etki göstermediği ve meme kanseri yanısıra kalp damar hastalıkları ile osteoporoz tedavisinde kullanılan diğer antiestrojenlere (TAM, Raloxifene) göre daha uygun olduğu sonucuna varmışlardır (DeGregorio et al., 2000).

Kangas ve grubu (Kangas et al., 1989); TOR bileşiğini hem  $^{11}\text{C}$  hem de  $^3\text{H}$  ile işaretleyerek, bileşiklerin meme tümörlü sıçanlarda biyodağılımını gerçekleştirmiş ve farmakokinetiklerini belirlemiştir. Niklas ve arkadaşları (Niklas et al.; 1990) ise  $^3\text{H}$  ile işaretli TOR ile TAM bileşiklerinin sıçan rahmindeki *in vivo* ve *in vitro* dağılımlarını incelemişlerdir.  $^3\text{H}$  ile bağlanmanın bileşiğin para-konumundaki fenil halkasının 3. ve 5. pozisyonlarında % 95 verim ile gerçekleştiği görülmüştür (Sipila et al., 1990). Yine aynı çalışmada, sıçanlar üzerindeki çalışmalar sonucunda idrar ve dışkı ile atılan metabolitlerin TOR bileşiğinin insan idrar ve dışkısı ile atılan metabolitleri ile benzer olduğu ve metabolik reaksiyonlarda TOR bileşiğine ait klor atomunun kararlı olduğu görülmektedir.  $^{14}\text{C}$  ile işaretli TAM ve TOR bileşiklerinin sıçan karaciğer DNA'sı üzerine etkileri hızlandırıcı kütle spektrometri (Accelerator Mass Spectrometry) yöntemi ile karşılaştırılmıştır (White et al., 1997).  $^{32}\text{P}$  radyonüklidi ile işaretleme sonrasında TOR metabolitlerinin HPLC ile analizleri yapılarak TAM metabolitleri ile kıyaslanmıştır (Shibutani et al., 2001). Lashley ve arkadaşları (Lashley et al., 2002) bir TAM türevi olan hidrofilik 4-hidroksi TAM-DTPA bileşiğini  $^3\text{H}$  ile işaretlemiş ve hidrofilik bileşiklerin ER'lerine bağlanma eğilimlerinin daha fazla olduğu sonucuna varmışlardır. Bir başka

çalışmada ise  $^{99m}\text{Tc}$  ile işaretli TAM bileşiği  $\text{N}_2\text{S}_2$  bifonksiyonel şelatlayıcı ajanı kullanılarak meme kanseri için bir görüntüleme ajanı olarak oluşturulmuş ve bileşiğin Relatif Bağlanma Afinite (RBA) değeri koyun uterusu sitozollerinde  $^3\text{H}$ -estradiol ile inkube edilerek hesaplanmıştır (Hunter et al., 2000). Ancak ülkemizde TOR bileşiğinin  $^{99m}\text{Tc}$  ile veya herhangi bir radyoizotop kullanılarak radyoişaretli bileşiğine rastlanılmamıştır.

Bu çalışma ile ER+ meme tümörlerini görüntüleme klinik uygulamalarda kullanıma sunulabilecek yeni bir antiestrogen türevi hidrofilik radyoligand tasarımı amaçlanmıştır. Antiestrogen ligandın radyonüklidle bağlanmasını kolaylaştırmak ve yapıyı hidrofilik hale getirerek estrogen reseptör afinitesini artırmak için hidrofilik bir grup olan dietilentriamin pentaasetik asit (DTPA) bileşiği yapıya takılmış ve kalay klorür ( $\text{SnCl}_2$ ) indirgeme metoduyla  $^{99m}\text{Tc}$  radyonüklidi ile işaretleme gerçekleştirilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Kanser ve Meme Kanseri

Kanser; ingilizcede ‘Yengeç’ anlamına gelmektedir. Yengeç düşmanını kısırdıktan sonra; uzun, dişli kollarıyla sıkıca tutmakta ve yavaş yavaş kemirerek yemektir. Tedavi edilmediği takdirde, insanı giderek zayıflatıp halsiz düşüren ve sonunda öldüren bu hastalığa, ‘Kanser’ adı verilmiştir (<http://www.kanserojoloji.com/kanser-nedir/>). Biyolojik olarak kanser, vücudu oluşturan hücrelerin kontrolsüz ve anormal şekilde çoğalmaları sonucunda ortaya çıkan bir hastalıktır. Hücrelerde önce bulunduğu yerde sınırsız bir çoğalma yeteneği, ardından daha uzak yerlerde çoğalma yeteneği anlamına gelen metastaz gelişir. Hücrelerdeki bu yeteneğin gelişimi genlerdeki mutasyon denilen değişikliklere bağlı kazanılmış işlev bozukluğuyla oluşur.

Dünyada 2000 yılı için: 22 milyon kanser vakası, 10 milyon yeni kanser vakası, 6 milyon ölüm, 2002 yılı için: 10.2 milyon yeni kanser vakası, 6.7 milyon ölüm tahmin edilmiş ve 2020 yılı için: 10 milyon ölüm beklenmektedir. Cinsiyete göre en çok görülen ve en öldürücü kanser türleri incelendiğinde ise erkeklerde prostat, akciğer ve kalın bağırsak; kadınlarda ise meme, akciğer ve kalın bağırsak kanserleri hem ülkemizde hem de dünyada ilk sıralarda karşımıza çıkmaktadır (Savaş, 2006).

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser türüdür. Kanser ölümlerinin % 18’ini oluşturmaktadır. Bir kadın birey yaşamı boyunca 1 / 12 meme kanserine yakalanma riski taşımaktadır. Yaşla birlikte görülme riski artmaktadır (Haydaroğlu v.d., 2005). Meme kanserinin sebeplerinin başında yaş, hormonlar ve kalıtım gelmektedir. Meme hücre veya dokularındaki herhangi bir hasarın özellikle kadınlarda meme kanserine yol açma riski oldukça yüksektir.

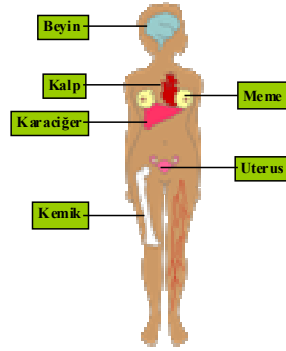
Bunun en önemli nedenlerinden biri kadınların menstrual bir döngüye sahip olmalarıdır (Heikkilä, 2001; Haydaroglu v.d., 2005).

## **2.2 Hormonlar ve Steroid Hormonlar**

Hormonlar, endokrin sistemde dokular arası haberleşmeyi sağlayan moleküller olup kanda serbest veya proteinlere bağlı olarak bulunurlar. Dolaşım sistemi içinde sinir sistemi dahil vücudun bütün hücrelerine taşınır, reseptörlere bağlanarak birçok reaksiyonu başlatırlar. Reseptörler; hormon molekülleri tarafından aktive edilen, yüksek afiniteli bağlanma noktaları olup, çoğunlukla glikoprotein yapısındadırlar, hormonu tanır ve bağlarlar. Kan dolaşımı içine salgılanan hormonlar, duyarlı olan çeşitli hücrelerde kendilerine özgü reseptörleri aktive ederek etki oluştururlar. Yağda çözünen hormonlar steroid yapılı hormonlardır ve kolesterolden sentezlenirler. Steroid moleküller dışiler tarafından üretilen doğal estrogenlerdir. Steroid molekülleri moleküler yapıları karbon atomlarından oluşan dört halkadan oluşmaktadır (Guyton and Hall, 2001; <http://www.nci.nih.gov>).

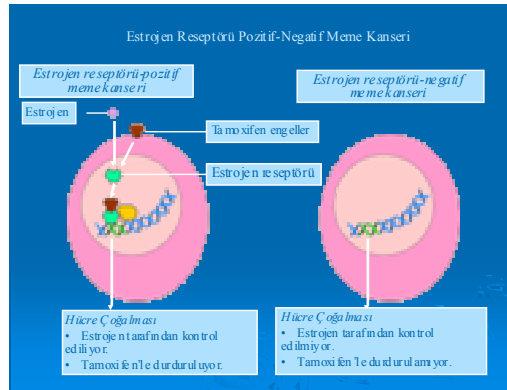
### **2.2.1 Estrojenler**

Estrojenler dişilik özelliklerinin ve cinsel yolla çoğalmanın gelişimini ve korunmasını uyaran moleküllerdir. Yumurtalıklardan salgılanırlar, kadınlarda menstrual siklus, meme bezlerinin gelişimi ve ikincil cinsiyet özelliklerinin düzenlenmesine katkıda bulunurlar. Estrojenlerin en önemli iki hedef organı üremede esas rol oynayan meme ve rahimdir. Bu bölgelerin yanı sıra Şekil 2.1'de de görüldüğü gibi beyin, kemik, kalp ve karaciğerde de etkilidir (<http://www.nci.nih.gov>).



Şekil 2.1 Estrojen hedef dokuları. (<http://www.nci.nih.gov>).

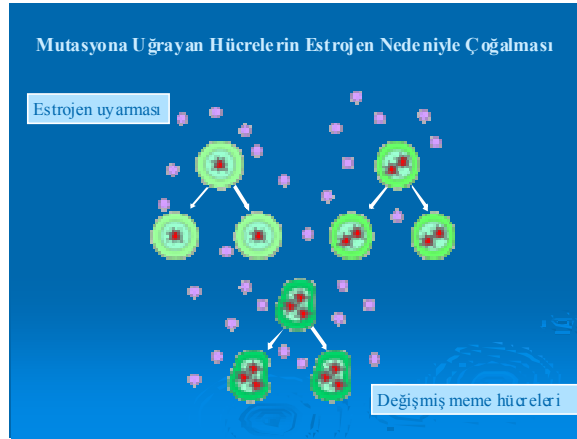
Estrojenler; hedef dokular üzerinde hücrelerin estrojen reseptörleri (ER) olarak adlandırılan parçalarına bağlanarak etki gösterirler (Şekil 2.2). ER+ ve ER- olmak üzere iki çeşit meme tümörü bilinmektedir (Strickland et al., 1990; Van de Wiele et al., 2000; Skaddan et al., 2000).



Şekil 2.2 ER+ ve ER-’lerin hücre içindeki davranışı.  
(<http://www.nci.nih.gov>).

## 2.2.2 Estrojen ve meme kanseri

Estrojenlerin oluşturduğu en ciddi tehdit meme ve rahimdeki hücrelerin çoğalmasını sağlayarak kadınlarda meme ve rahim kanseri gelişimi riskini artırabilmeleridir (Şekil 2.3). Hızla ilerleyen teknoloji sayesinde, ER'lerinin belirlenmesi ile birlikte, bu hormonun etki mekanizması hakkındaki bilgilerimiz genişlemiş, fizyolojik ve patolojik şartlarda estrojenin rolü daha belirgin olarak ortaya çıkmıştır. Orta yaşta bir kadında, ergenlikten menopoza kadar kabaca 40 yıl geçtiği düşünülürse bu yüzlerce kez meme hücrelerinin bölündüğü ve hücre ölümlerinin tekrarlandığını gösterir. Estrojen, önceden mutasyona uğramış olan meme hücrelerin de çoğalma sağlayacağından kanser riski de bir o kadar artacaktır (<http://www.nci.nih.gov>).



Şekil 2.3 Mutajenik hücrelerin estrojen uyarımı ile davranışları.

(<http://www.nci.nih.gov>).

### 2.3. Antiestrojenler ve Selektif Estrojen Reseptör Modülatörleri (SERMs)

Bazı estrojen bileşikleri hem agonist, hem de antagonist etkiye sahip olduklarından SERM olarak adlandırılırlar. Estrojen miktarının normalden az veya çok olması halinde, etki gösterdiği tüm sistemlerde osteoporozdan, endometrium ve meme kanserine dek çeşitli değişiklikler meydana gelmektedir.

Günümüzde estrogenin etkisini modifiye edebilen ve bu tip patolojik durumlarda kullanılacak ajanlar mevcuttur. Bunlar antiestrogenlerdir. Antiestrogenler, özellikle kısmi agonistik etkilerine dayanarak vücutta estrogenin etkilerini ortadan kaldıran bileşiklerdir, genel olarak SERM diye adlandırılırlar.

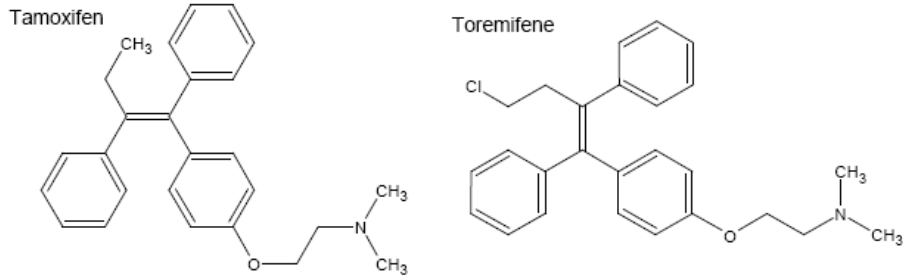
TAM, meme kanseri tedavisinde ilk kullanılan standart bir antiestrogen ajandır ve çeşitli bölgelerde yüksek estrogen aktivitesi gösterir. Sıçan rahminde TAM'a göre önemli derecede düşük bölgesel aktivite gösteren antiestrogen ajanlar da (4-hidroksiTAM, trioxifen, LY117018, LY139481, TOR) tanımlanmıştır (Di Salle et al., 1990). Bu ajanlar meme kanseri tedavisinde kullanılırken şüphesiz farklı sistemlerde de etki göstermekte, bu nedenle bazı faydalı ve zararlı etkilere de sebep olmaktadır. Birçok çalışmada antiestrogenlerle estrogenlerin rahim gibi hedef organdaki ER'lerine bağlanmak için yarıştığına değinilmiştir (Simberg et al., 1990). SERM çeşitlerine birkaç örnek verilecek olursa; TAM, TOR, Raloxifene, Arzoxifene, Droloxifene, İdoxifene, Clomifene v.s. TAM ve TAM türevleri SERM kategorisindeki antiestrogen ilaçlar arasında olup, kanser hücrelerini estrojensiz bırakarak bu hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını engellemektedir.

### **2.3.1 Toremfene (TOR)**

TOR bileşiği meme ve rahim kanserlerinin tedavisinde sitrat formunda kullanılan bir antiestrogen ilaçtır (Soe et al., 1997; Maempaa et al., 2002; Kim et al., 2003).

TOR, TAM'ın kimyasal türevi olan nonsteroid yapıda bir antiestrogenik ajandır. IUPAC adlandırma sistemine göre TOR; "4-chloro-1,2-diphenyl-1-(4-(2-(N,N-di-methylamino) ethoxy) phenyl)-1-butene" şeklinde

adlandırılmaktadır. TAM ve TOR bileşiklerinin molekül yapıları Şekil 2.4’de görülmektedir.



Şekil 2.4 TAM ile TOR bileşiklerinin moleküler yapısı.

TOR, trifeniletilen türevi SERM kategorisinde yer almakta olup ER’lerine karşı hem agonistik hem de antagonistik özellik gösterme yeteneğiyle birlikte özellikle ER+ kanserleri üzerine etkilidir (Kangas, 1990).

TAM’ın özellikle rahim üzerinde gösterdiği yan etkileri nedeni ile yeni antiestrogenler geliştirme arayışına girilmiştir. Bu çalışmalar ile TAM’ın klorlanmış türevi olan TOR bileşiği ilk kez 1978’de Finlandiya’da geliştirilmiştir. Yapılan klinik deneylerde bu yeni antiestrogenin umut verici olduğu görülmüş ve 1982 sonu 1983 başında insanlar üzerindeki ilk çalışmalar başlamıştır (Kangas, 1990; Pukkala et al., 2002).

Birçok araştırmacı, TOR bileşiğinin TAM’a göre rahimde düşük estrogenik etki gösterdiğini, memede ise daha yüksek antiestrogenik etki gösterdiğini vurgulamıştır (Grenman et al., 1991; Soe et al., 1997; DeGregorio et al., 2000; Shibutani et al., 2001; Kim et al., 2003; EMEA, 2005; Harvey et al., 2006). Shibutani ve arkadaşları (Shibutani et al., 2001) yaptıkları bir çalışmada; TOR bileşiğinin TAM bileşiğinden daha düşük gen toksisitesine sahip olduğu

sonucuna varmışlar ve endometrial kanser gelişimini önleme alternatifleri arasında TOR kullanımının daha güvenli olacağını belirtmişlerdir. Bu sonucu destekleyen birçok araştırma mevcuttur (Gunderson, 1990; Kivinen and Meampaa, 1990; Sipila et al., 1990; Valavaara et al., 1990; Grenman et al., 1991; Soe et al., 1997; DeGregorio et al., 2000; Jones and Kim, 2002; Kim et al., 2003; IBCSG, 2004). Yine bir grup araştırmacı TOR türevi bir bileşik olan FC-1271a'nın rahimde bir estrogenik etki göstermediğini ve meme kanseri yanısıra kalp damar hastalıkları ile osteoporoz tedavisinde kullanılan diğer antiestrogenlere göre daha etkili olduğunu belirtmişlerdir (DeGregorio et al., 2000).

TAM bileşiğinin karaciğerde tutulumunun yüksek olduğunu belirten birçok çalışma mevcut iken (Sipila et al., 1990; Strickland et al., 1990; Valavaara et al., 1990; Soe et al., 1997; Kim et al., 2003) TOR ile yapılan çalışmalarda karaciğerde olumsuz bir etkiye rastlanmadığı görülmüştür (Kangas, 1990; Modig et al., 1990; Szamel et al., 1990). Bu sonuç TOR bileşiğinin daha çok tercih edilme sebeplerinden biridir.

Deney hayvanları (sıçan, köpek, maymun, at) ve insanlar üzerinde yapılan metabolizma çalışma sonuçları benzer olup sadece küçük spesifik farklılıklar mevcuttur. Moleküldeki klor atomu kararlı olup metabolik reaksiyonlar esnasında molekülden kopmaz bu nedenle TAM bileşiğiyle kimyasal olarak aynı ve benzer yolla metabolize olmalarına rağmen metabolitleri birbirinden farklıdır. TOR lipofilik bir bileşik olduğundan vücut boyunca dağılmaktadır (Kangas, 1990; Sipila et al., 1990).

## **2.4 Radyoşaretli Antiestrogenler**

Son yıllarda radyonüklidlerle işaretli estrogen bileşikleri yanı sıra ER spesifik radyofarmasötiklerin geliştirilmesi çalışmalarına antiestrogen türevleri de ilave edilmiştir. Literatürde radyoişaretli antiestrogenlerle ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında;  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$  ve  $^{131}\text{I}$  radyonüklidleri ile işaretli radyofarmasötiklere rastlanılmaktadır (Kon, 1983; Spila et al., 1990; Strickland et al., 1990; Simberg et al., 1990; Delpassand et al., 1996; Kruijer et al., 1997; White et al., 1997; Hunter et al., 2000; Shibusani et al., 2001; John et al., 2002; Lashley et al., 2002; Müftüler v.d., 2008).

Lashley ve arkadaşlarınca bir TAM türevi olan 4-hidroksiTAM bileşiğine DTPA ligandının bağlanmasını içeren uzun bir sentez çalışması gerçekleştirilmiş, oluşan bileşiğin ER bağlanma afinitesi  $^3\text{H}$ -estradiol kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu hidrofilik bileşiğin ER zengin dokularda TAM bileşiğine göre daha yüksek ER bağlanma afinitesine sahip olduğu görülmüştür (Lashley et al., 2002). Kedjouar ve arkadaşları TAM'ı  $^3\text{H}$  ile işaretleyerek hazırlanan bileşik ile meme tümör hücreleri üzerinde çalışmıştır (Kedjouar et al., 2004). Bir başka çalışmada ise  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ile işaretli TAM bileşiği  $\text{N}_2\text{S}_2$  bifonksiyonel şelatlayıcı ajanı kullanılarak meme kanseri için bir görüntüleme ajanı oluşturulmuş ve bileşiğin Relatif Bağlanma Afinitesi (RBA) değeri koyun uterusu sitozollerinde  $^3\text{H}$ -estradiol ile inkübe edilerek hesaplanmıştır (Hunter et al., 2000). TAM bileşiğinin etki mekanizmasının araştırılması ve radyoişaretli estradiol kullanımına göre daha kullanışlı olan radyoişaretli TAM terapisinin etkisi hakkında daha doğru bilgi edinmek için hidrofilik bir bileşik olan  $^{111}\text{In}$ -DTPA-TAM bileşiği ile çalışılmış ve radyoişaretli bu bileşiğin, yumurtalık ve rahim kanseri teşhisinde ER+ tümörleri görüntülemeye kullanılabileceği ve meme tümörü gelişimini azaltabileceği yönünde olumlu sonuçlar verdiği görülmüştür (Delpassand et al., 1996). Van DeWiele ve grubu bir antiestrogen reseptör radyoligandı olarak  $^{123}\text{I}$ -iyodometil-

N,N-dietiltamoxifen bileşimini seçerek biyodağılım ve dozimetrik çalışmalar yapmıştır (Van DeWiele et al., 1999). İki yıl sonra bu bileşimin ilk evredeki meme kanseri için *in vivo* görüntüleme potansiyelini saptama çalışmaları yapılmıştır (Van DeWiele et al., 2001). De Vos ve arkadaşları bu radyoligandın HPLC yöntemi kullanarak insan plazmasındaki dağılımını incelemişlerdir (De Vos et al., 2001). Bu çalışmalara ilave olarak Müftüler ve grubu ise TAM'ı iodojen yöntemine göre  $^{131}\text{I}$  ile işaretlemiş ve biyodağılım sonuçları ile rahimdeki tutulumun dikkat çekici olduğunu göstermişlerdir (Müftüler v.d., 2008). Bir başka araştırma ise uzun yarı ömürlü radyoizotop olan  $^{14}\text{C}$  ile işaretli TAM'ın meme ve rahim kanseri hastalarında terapötik doz dağılımını içermektedir (Martin et al., 2003). Young ve arkadaşları, Pozitron Emisyon Tomografi (PET) ile görüntülemede kullanılmak üzere yeni antikanser ilaçların gelişimi için  $^{125}\text{I}$  ve  $^{131}\text{I}$  ile işaretli iki ayrı idoxifene bileşiği sentezlemiş, bu bileşiklerin biyodağılımlarını ve dinamik davranışlarını meme tümörlü sıçanlar üzerinde incelemişlerdir (Young et al., 1995).

TOR bileşiği hem  $^{11}\text{C}$  hem de  $^3\text{H}$  ile işaretlenerek, bileşiklerin meme tümörlü sıçanlarda biyodağılımı ve farmakokinetiği belirlenmiştir (Kangas et al., 1989). Niklas ve arkadaşları (Niklas et al., 1990) ise  $^3\text{H}$  ile işaretli TOR ile TAM bileşiklerinin sıçan rahmindeki *in vivo* ve *in vitro* dağılımlarını incelemişlerdir. TOR bileşiminin  $^3\text{H}$  ile bağlanmasının bileşimin para konumundaki fenil halkasının 3. ve 5. pozisyonlarında % 95 verim ile gerçekleştiği görülmüştür (Sipila et al., 1990). Yine aynı çalışmada sıçanlar üzerindeki çalışmalar sonucunda idrar ve dışkı ile atılan metabolitlerin TOR bileşiminin insan idrar ve dışkısı ile atılan metabolitleri ile benzer olduğunu ve metabolik reaksiyonlarda TOR bileşiğine ait klor atomunun kararlı olduğu görülmektedir.

$^{14}\text{C}$  ile işaretli TAM ve TOR bileşiklerinin sıçan karaciğer DNA'sı üzerine etkileri hızlandırıcı kütle spektrometri (Accelerator Mass Spectrometry) yöntemi

ile karşılaştırılmıştır (White et al., 1997).  $^{32}\text{P}$  radyonüklidi ile işaretleme sonrasında TOR metabolitlerinin HPLC ile analizleri yapılarak TAM metabolitleri ile karşılaştırılmıştır (Shibutani, 2001). Dünyada ve ülkemizde ise TOR bileşiğinin  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ile radyoişaretleme bileşiği deneysel veya klinik olarak çalışılmamıştır.

## 2.5 Teknesyum-99m ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) Kimyası

Teknesyum; atom numarası 43 olan VIIB grubu metal olup, periyotlar cetvelinde ilk keşfedilen sentetik elementtir. İtalyan bilim adamları Carlo Perrier ve Emilio Segrè tarafından 1937 yılında siklotronda molibdenin (Mo) döteryum ile bombardımanı sonucunda elde edilmiştir.  $^{98}\text{Mo}$  bir nötron yakalayarak  $^{99}\text{Mo}$ 'ya dönüşür.  $^{99}\text{Mo}$  yaklaşık 67 saat yarı ömür ile negatif beta bozunması yaparak Teknesyum-99m ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ )'ye dönüşür. Radyofarmasötik kitlerinin çoğu; jeneratör vasıtası ile kolay elde edilmesi, kısa yarı ömrü, dedekte edilebilen ve düşük gama enerjisi nedenleri ile  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  kullanılarak hazırlanır.  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ;  $^{99}\text{Mo}$  /  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  jeneratöründen perteknetat ( $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ ) formunda elde edilir. Mo 740 - 780 keV enerjili beta bozunumu ile % 87'si  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 'ye, % 13'ü  $^{99}\text{Tc}$ 'ye dönüşür.  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  yarı ömrü 6,0067 saat olup 140,5 keV gama saçarak izomerik geçiş ile  $^{99}\text{Tc}$ 'ye dönüşür.  $^{99}\text{Tc}$  beta saçılımı ile ve  $2,14 \times 10^5$  yıl yarı ömürle  $^{99}\text{Ru}$ 'ya dönüşür. -1 ile +7 arasında sekiz oksidasyon hali vardır. Tc +7 ve +4 değerliği en kararlı halidir. +7 değerli hali diğer bileşiklerle doğrudan birleşmez. Bunun için daha alt oksidasyon düzeylerine indirgenmelidir. Çeşitli indirgen ajanlar kalay klorür, kalay sitrat, kalay tartarat, sodyum borhidrit, demir sülfat v.b. bu amaçla kullanılmaktadır (Argonne National Laboratory, 2005; Morillon et al., 2004; <http://www.bookrags.com/>).

### 2.5.1. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ işaretleme bileşiklerinin kalite kontrolü

$^{99m}\text{Tc}$ ; kitteki ligand adı verilen ve özgül bir organ sisteminde lokalize olmak üzere geliştirilmiş substrat molekülüne tutunur. Radyofarmasötigin etkili olabilmesi için  $^{99m}\text{Tc}$ 'nin çoğunun ligandla bağlanması ( $\geq \% 95$ ) ve ürün içinde serbest  $^{99m}\text{Tc}$ 'nin çok düşük miktarda kalmış olması gerekir. İşaretleme işleminin bir diğer yan ürünü olan indirgenmiş  $^{99m}\text{Tc}$  de düşük düzeyde bulunmalıdır. Hem serbest hem indirgenmiş  $^{99m}\text{Tc}$ , görüntülerde yanlış tanıya neden olabilecek ya da değerlendirmeyi güçleştirecek safsızlıklar oluşturabilir. Hazırlanan radyofarmasötiklerin herbiri hastalarda kullanılmadan önce radyokimyasal saflık yönünden test edilmelidir. Teknesyum radyofarmasötiklerinin kalite kontrolü için çeşitli kontrol prosedürleri geliştirilmiştir. En sık kullanılan kalite kontrol yöntemleri; ince tabaka kromatografisi (TLC), kağıt elektroforezi ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemleridir (Theobald, 1989; Ünak P., 2003).

### **2.5.1.1 İnce tabaka kromatografisi (Thin layer chromatography):**

İnce tabaka kromatografisi (TLC), en çok kullanılan kromatografik teknik olup bir katı - sıvı adsorpsiyon kromatografisidir. Destek madde üzerine homojen olarak kaplanmış bir adsorban tabakası üzerine, mikrolitre ( $\mu\text{L}$ ) düzeyinde uygulanan madde karışımlarının uygun çözücü veya çözücü karışımları yardımıyla ayrılmasıdır. TLC plakaları, destek maddesi (alüminyum, plastik, cam gibi) üzerine bir adsorbanın (selüloz, silikajel ve alüminyum oksit gibi maddeler) kaplanmasıyla oluşturulmuş plakalardır. Sabit faz, çeşitli boyutlardaki destek materyal üstüne, ince bir tabaka halinde sıvanmış katı adsorban maddedir. Bu yöntemde hareketli fazın sabit faz üzerinden ilerleyişi, aşağıdan yukarı doğru olur. Çözücü kılcalık etkisi ile içerisine daldırılan TLC plakası üzerinde yürür ve plakanın alt kesimlerine bir kapiler ile önceden damlatılmış olan karışımı da farklı hızlarla yukarıya sürükler. Ayırım bu şekilde sağlanmış olur. Yürüme hızı maddenin, katı fazın ve çözücünün polaritesine

bağlıdır. Polar maddeler, çözücü / adsorban madde ikilisinden daha polar olan ile daha sıkı etkileşim gösterirler. Çözücünün ilerleme seviyesi plaka boyunun yaklaşık % 90'ına ulaştığında, kromatogram çözücünden çıkarılır. Başlangıç çizgisi ile çözücünün son seviyesi arasındaki mesafe ölçülür (Skoog, 1998; Gündüz, 2002; Grillini, 2006).

Her bir bileşenin taşınım mesafesi  $R_f$  (relative front) değeriyle ifade edilir. Bu değer; her madde için adsorban, destek madde ve çözücüye bağlı olarak ayırt edici bir özelliktir. Bu mesafeler orijinden çözücünün gittiği nokta ve bileşenlerin konsantre olduğu mesafe orijinden ölçülerek gerekli şekilde tespit edilir. Radyofarmasötiklerin kalite kontrolünde  $R_f$  değerleri radyofarmasötüğün radyokimyasal saflığının hesaplanmasında önemli bir değerdir (Theobald, 1989).

### **2.5.1.2 Kağıt elektroforezi**

Elektroforez, bir çözeltideki iyonların elektriksel bir alanın etkisi altında yaptıkları hareketi anlatmak için kullanılır. Maddelerin ortamdaki hareketi elektriksel alanın etkisiyle meydana gelir. İyonize olabilen maddeler birbirinden ayrılır, iyonize olmayan maddeler ise hareket etmezler (<http://www.accessscience.com/>). Bu teknikte, iki bölümden oluşan elektroforez kabının her bir bölümü aynı tampon çözeltisiyle doldurulur. Önceden bir parçası tampon çözelti ile nemlendirilen bir filtre kağıdı her iki ucu tampon çözeltiye batacak şekilde yerleştirilerek örnek, nokta şeklinde kağıdın ortasına damlatılır. Sistem kuvetlere daldırılmış olan elektrotlar ile bir elektrik devresine bağlanır. Devre açılarak tamponu oluşturan madde iyonlarının hareketinden dolayı tamponla ıslatılmış kağıt iki elektrot bölme arasında bir köprü oluşturur. Devre kapatıldığında kağıdın bir ucu anot (+) diğer ucu ise katot (-) yükle yüklenmiş olur. Kağıdın ortasına uygulanan karışımdaki maddeler sıvı ortamda iyonize

olur ve (+) yüklü iyonlar katoda, (-) yüklü iyonlar ise anoda doğru hareket ederler. Elektroferez tekniği daha çok nötr, asidik ve bazik amino asitlerin ayrımında kullanılır (Skoo g, 1998).

### 2.5.1.3 Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisinde hareketli faz sıvıdır. Maddelerin herhangi bir çözücüde çözünmesi yeterlidir. Kolon uygun bir adsorbanla doldurulmuş ise temel olarak adsorbsiyon mekanizması gözlenir. Partisyon mekanizması için apolar bir hareketsiz faz gaz-sıvı kromatografisindeki (GSK) gibi porlu bir inert madde üzerine adsorpsiyon yoluyla veya kimyasal bağlarla film şeklinde kaplanır. Kalın cam veya paslanmaz çelik kolonların iç çapı 3 - 5 mm, boyu 10 - 25 cm'dir. Bu kolonların tabaka sayıları ise 40000 - 100000 tabaka / m kadardır. Kolonlara, uygun akış hızları elde edebilmek için bir pompa yardımıyla hareketli sıvı faza 6000 psi (1 b / in<sup>2</sup>) kadar basınç uygulanabilmektedir. İçine hareketsiz faz yerleştirildikten sonra hareketsiz faz ile kısmen doyurulmuş hareketli faz kolon içine pompalanır. Birkaç saat bu halde bırakılıp hareketsiz fazın kolon içindeki konsantrasyonu sabit hale getirildikten sonra ayrılması istenen karışım, kullanılan hareketli fazda çözülmüş halde kolonun başından enjekte edilir. Esas itibariyle partisyonla uğrayarak ilerleyen ve birbirinden ayrılan maddeler kolonu terkedip dedektörden geçtikten sonra bir kap içinde toplanır. Sonuçlar kayıt cihazındaki kağıda pikler şeklinde kaydedilir. HPLC metodu radyofarmasötiklerin kalite kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Belirli koşullarda verilen maddelerin kolonda alıkonma süreleri ( $R_t$ ) kimyasal özellikleri nedeni ile birbirlerinden farklılık göstermesi ile ayırım gerçekleştirilmektedir (Theobald, 1989; Gündüz, 2002; Ahuja, 2006).

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

##### 3.1.1 Kullanılan kimyasallar

TOR (Abdi İbrahim İlaç San. ve Tic. A.Ş.),

Sodyum perteknatat ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ) (Monrol A.Ş.),

Kalay klorür dihidrat ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck),

Dietilentriamin pentaasetik asit (DTPA) (dianhidrid) (Sigma),

Asetonitril ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) (Merck),

Aseton ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ) (Merck),

Potasyum karbonat ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) (Merck),

Kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) (Merck),

Trietil Amin (TEA) (Merck),

Metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) (Merck),

Etanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) (Merck),

Dipotasyum hidrojenfosfat ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) (Merck),

Potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (Merck),

Anti koagulan sitrat dekstroz çözeltisi (ACD) (Eczacıbaşı / Baxter),

n-oktanol (Merck),

pH = 7 Tamponu (Merck),

pH = 10 Tamponu (Merck),

Metil Etil Keton (MEK) (Merck),

Serum Fizyolojik (SF) (% 0.9 NaCl çözeltisi),

Siklohekzan (Merck),

Merkaptaetanol (Fluka),

Triton X100 (Sigma),

Tween 80 (Sigma),

ITLC-SG (Merck-5554),

Elektroforez Kağıdı (Whatman 1).

### 3.1.2 Kullanılan cihazlar

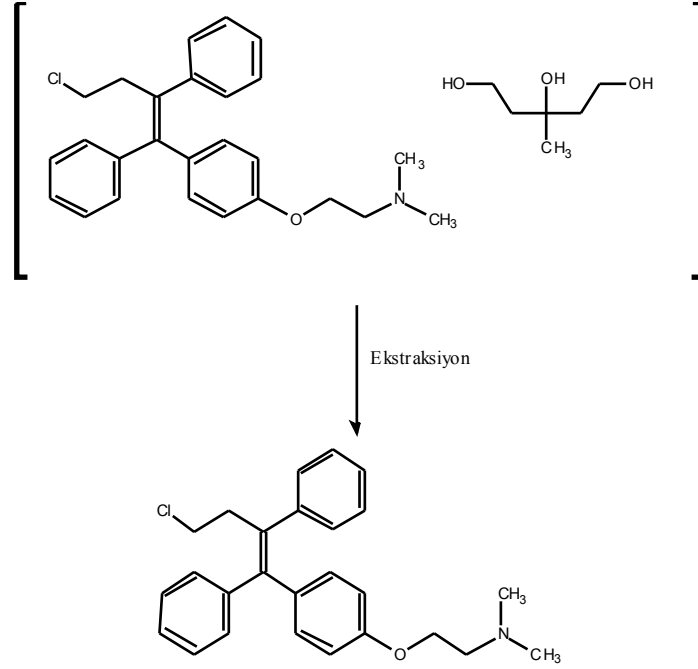
- **RAD-501 Cd(Te) tek kanallı sayım sistemi (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),**
- HPLC Shimadzu (LC-10Atvp quaterner pompalı, SPD-10AV UV dedektörlü, FRC-10A fraksiyonlama kollektörü) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),
- Gaz Kromatografi / Kütle Spektrometre (GS - MS / MS), [GC – Varian Star 3400 CX, MS – Varian Saturn 2000 (GC – MS / MS (Ion Trap))] (İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü),

- Kağıt Elektrofözezi (Gelman) (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı),
- *UV lamba (G15T8 15W Germicidal Lamp UV-C)* (E. Ü. Nükleer Bilimler Enstitüsü, Nükleer Uygulamalar Anabilim Dalı).

### 3.2 Kimyasal Sentez Basamakları

#### 3.2.1 TOR (Sitrata) bileşiminin ekstraksiyon yöntemi ile saflaştırılması

Bir antiestrogen olan TOR bileşimi ticari olarak sitrata formunda temin edilmiştir. Yapıdan sitrataın uzaklaştırılması daha sonraki deneysel aşamalarda sorunlar yaşanmaması için gerekli bir aşamadır. Bu yüzden bileşik sikloheksan ile ekstrakte edilerek TOR saflandırılmıştır. Bu amaçla 15 tablet TOR (3 mg), 3 mL metanolde çözülerek 3 dakika 2000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Üst faz alınarak çökeleğe aynı işlemler uygulandıktan sonra tekrar üst faz alınmıştır. Her iki üst faz aynı kap içerisinde toplanmış ve çözücü uçurulmuştur. Elde edilen beyaz renkli çökeleğe 30 mL pH = 10 tamponu ilave edilmiş ve içerisinde asılı partiküller bulunan bulanık bir çözelti elde edilmiştir. Daha sonra 10 mL sikloheksan ile bu çözelti ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonucunda üst faz alınarak çözücü uçurulmuştur. Çözücünün buharlaşması ile hindistan cevizi görünümünde beyaz çökelekler halinde sitrata içermeyen saf TOR bileşimi elde edilmiştir (Şekil 3.1). Daha sonraki sentez basamaklarında kullanılmak üzere -20 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.



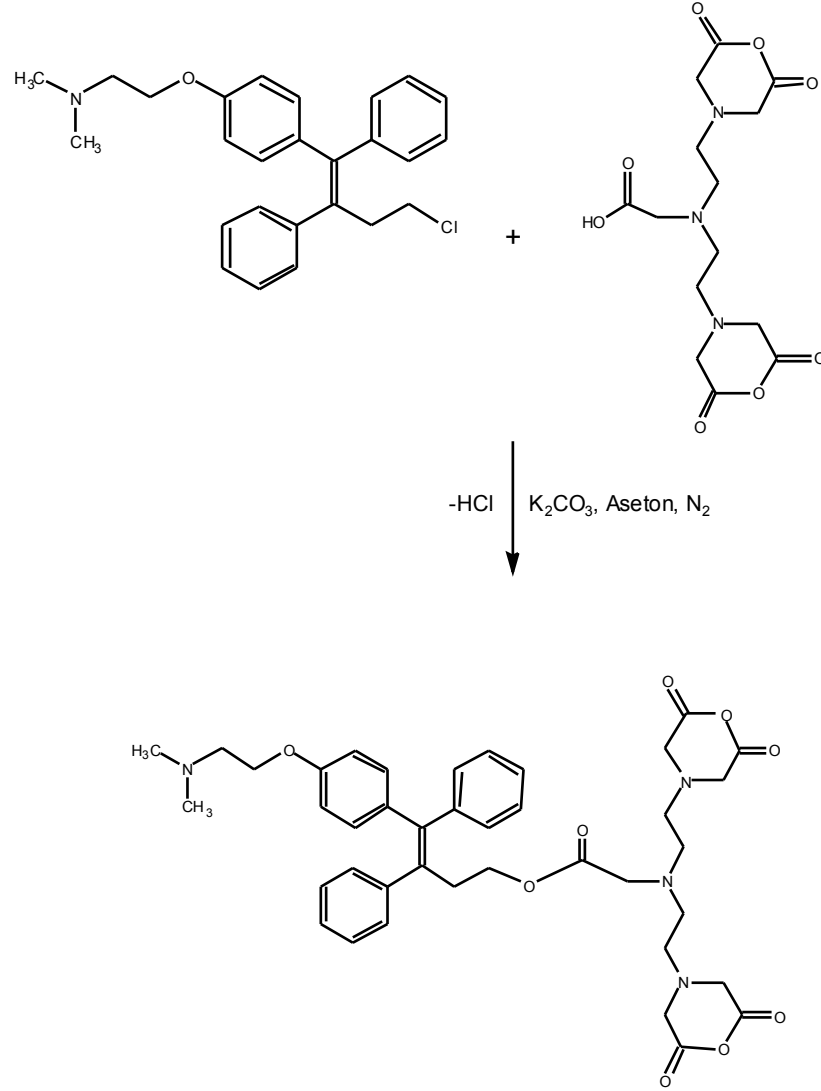
Şekil 3.1 TOR (Sitrat) bileşiğinin ekstraksiyon yöntemi ile saflaştırılması.

### 3.2.2 TOR-DTPA bileşiğinin elde edilmesi

Bu sentez basamağında ekstrakte edilen TOR bileşiğinden 22 mg (0.05 mmol) iki boyunlu bir balona alınıp, üzerine 42 mg (0.12 mmol) DTPA eklenerek 10 mL aseton ilave edilmiştir. Reaksiyon için hazırlanan sistem Şekil 3.2’de görülmektedir. Reaksiyon esnasında oluşan hidrojen klorürü ortamdaki uzaklaştırmak için 10 mg (0.069 mmol)  $K_2CO_3$  eklenmiştir ve inert atmosferde oda sıcaklığında 24 saat karıştırılmıştır (Şekil 3.3). Reaksiyon boyunca aseton buharlaştığından ortama sürekli aseton ilave edilmiştir. TOR-DTPA bileşiğinin ACD / Name to Structure Version 6.0 for Microsoft Windows Programı ile IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) adlandırma sistemine göre adlandırılması “(3Z)-4-{4-[2-(dimethylamino) ethoxy] phenyl}-3,4-diphenylbut – 3-en-1-yl *N,N* – bis [2-(2,6-dioxomorpholin-4-yl)ethyl]glycinate” şeklindedir.



Şekil 3.2 TOR-DTPA bileşiğinin sentezi sırasında kurulan düzenek sistemi.



Şekil 3.3 TOR-DTPA bileşiğinin sentezi.

### 3.3 İnaktif Bileşenler (TOR, DTPA, TOR-DTPA) için Kullanılan Kromatografik Yöntemler

TOR, DTPA, TOR-DTPA maddelerinin kalite kontrolü İnce Tabaka Kağıt Kromatografi (TLC), Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC) yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir.

### 3.3.1 TLC yöntemi

TLC için silikajelle kaplı, kalınlıkları 0.1 mm olan 20 x 20 cm boyutlarındaki alimünyum tabakalar (Merck 5554) kullanılmış ve bu tabakalar 1.5 x 10 cm'lik şeritler halinde kesilmiştir. Hazırlanan şeritlerin üzerine tabandan 0.5 cm yukarıya kapiler yardımıyla inaktif bileşenler damlatılmıştır. Maddelerin uygulandığı bu şeritler içerisinde çözücü olarak 9 : 1 oranında aseton : su karışımı bulunan TLC tankına konmuştur. Tanktaki çözücünün şeritlerin yaklaşık % 90'ı kadar ilerlemesinden sonra şeritler küvet içinden çıkartılıp oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutulan TLC şeritlerine UV lamba altında bakılmış ve bileşenlerin çözgen içerisinde ilerleme mesafelerinin ve  $R_f$  değerlerinin birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Bu basamağa ilişkin sonuçlar 4. Bölüm'de yer almaktadır.

### 3.3.2 HPLC yöntemi

Bu çalışmada uygulanan kromatografik koşullar Çizelge 3.1'de verilmiştir. C-18 kolon kullanılarak bu koşullarda inaktif TOR, DTPA, TOR-DTPA bileşenlerine ait kromatogramlar 4. Bölüm'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 HPLC yönteminde uygulanan kromatografik koşullar.

Kolon	EC 250 / 4.6 NUCLEODUR 100 – 5 C18 (250 x 4.6 mm I.D.) Analitik kolon (Macherey - Nagel)
-------	---

Akış hızı	1.5 mL / dak
Dalga boyu	240 nm ve 280 nm
Mobil faz	% 80 Asetonitril çözeltisi
Sıcaklık	30 °C

### 3.4 Yapı Analizi

Günümüzde gaz kromatografi cihazları, doğrudan taramalı bir kütle spektrometrisine bağlı şekildedir. Kromatografi cihazındaki akış hızı kütle spektrometresinin tarama hızına göre ayarlanarak kolondan çıkan fraksiyonlar olduğu gibi kütle spektrometresi iyonlaştırma hücreğine gider. Gaz kromatografi cihazlarında kullanılan en basit dedektör elektron yakalama dedektörüdür. Bu cihazda elüe edilen numuneden elektron darbesiyle veya kimyasal iyonlaştırma metodu ile iyonlar oluşturulur ve bu iyonlar radyofrekanslı alanda toplanır. Toplanan iyonlar bir elektron çoğaltıcı dedektöre gönderilir ve burada kütle / yük oranına göre kaydedilir. Kütle spektrometre ile birleştirilmiş gaz kromatografi cihazları yüzlerce biyolojik ve doğal karışımlar içinde bulunan bileşenlerin belirlenmesinde kullanılmıştır. Tandem kütle spektrometri (MS / MS), GC / MS ve LC / MS ile aynı avantajları sağlamaktadır, ancak bunlardan çok daha hızlıdır (Skoog, 1998; Gündüz, 2002). Örneklerin GC - MS / MS spektrumları, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde [GC – Varian Star 3400 CX, MS – Varian Saturn 2000 (GC - MS / MS (Ion Trap))] cihazında alınmıştır. Mihailescu ve arkadaşlarıncı kullanılan method referans olarak kullanılmıştır (Mihailescu et al., 2000). Çizelge 4.2'de ise TOR-DTPA bileşiğine ve çeşitli fragmanlarına ait GC - MS / MS spektrumlarındaki gözlenen m / z değerleri verilmiştir (m: kütle, z: yük).

### 3.5 İşaretleme Yöntemi

$^{99m}\text{Tc-DTPA}$ ,  $^{99m}\text{Tc-TOR-DTPA}$ ,  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ve İndirgenmiş teknesyum (İnd. $^{99m}\text{Tc}$ ) bileşiklerine ait  $R_f$  değerlerini, elektroforez sonuçlarını içeren çizelgeler, TLRC kromatogramları ve elektroforez diyagramları 4. Bölüm’de verilmiştir.

### 3.5.1 $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ çözeltisinin hazırlanması

1 mg DTPA (dianhidrid) 1 mL saf suda çözülerek stok çözelti hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden 100  $\mu\text{g}$  alınıp üzerine 100  $\mu\text{L}$   $\text{SnCl}_2$  (1 mg  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  / 1 mL  $\text{H}_2\text{O}$ ) ilave edildikten sonra 1 M  $\text{NH}_3$  ile pH = 5’e ayarlanmıştır. Üzerine 0.1 mL 37 MBq (1 mCi)  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ilave edilerek 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Spesifik aktivite yaklaşık olarak 145.54 GBq / mmol olarak hesaplanmıştır.

### 3.5.2 $^{99m}\text{Tc-TOR-DTPA}$ çözeltisinin hazırlanması

Sentez sonucu elde edilen TOR-DTPA’dan 1 mg alınıp 10 mL asetonda çözülerek (1 mg / 10 mL) stok çözelti hazırlanmıştır (pH = 5). Buradan 1 mL (100  $\mu\text{g}$ ) alınıp üzerine 40  $\mu\text{L}$  Tween-80 ve 100  $\mu\text{L}$  kalay klorür çözeltisi (1 mg  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  / 1 mL 0.1 M HCl) ilave edilmiştir. Çözeltinin pH değeri 1 M NaOH ile 5’e ayarlanarak 0.1 mL 37 MBq (1 mCi)  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ilave edilmiş ve 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edilerek işaretleme reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Spesifik aktivite yaklaşık 282.44 GBq / mmol hesaplanmıştır.

## 3.6 Radyoişaretli Bileşiklerin Kalite Kontrolünde Kullanılan Yöntemler

### 3.6.1 Kağıt elektroforezi yöntemi

Elektroforez işlemi 1.5 x 24 cm boyutlarında kesilmiş Whatman kağıtları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kağıtların pozitif ve negatif uçları işaretlendikten sonra kağıtlar banyo çözeltisi olan serum fizyolojik (SF) çözeltisinde ıslatılarak elektroforez kabına yerleştirilmiştir. Ardından kağıtların orta noktası uygulama noktası seçilerek 10'ar µL'lik  $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ ,  $^{99m}\text{Tc-TOR-DTPA}$ ,  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ , İnd  $^{99m}\text{Tc}$  örnekleri damlatılmıştır. 50 dakika boyunca 250 Volt potansiyel fark altında elektroforez işlemi gerçekleştirilmiştir. İşlem tamamlandıktan sonra kağıtlar elektroforez kabından çıkarılarak oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan kağıtlar 1'er cm şeklinde parçalara bölünerek Cd(Te) dedektörü ile aktiviteleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlarla parça sayısına karşı aktivite grafikleri çizilerek örneklerin yükleri hakkında bilgi edinilmiş ve dolayısıyla işaretlenme verimi hakkında fikir edinilmiştir. Bu yöntemle yapılan çalışmalar 3'er kez tekrarlanmıştır.

### 3.6.2 İnce tabaka radyo kromatografi (TLRC) yöntemi

$^{99m}\text{Tc}$  ile işaretli bileşiklerin,  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ve İnd.  $^{99m}\text{Tc}$  için TLRC yöntemi ile kalite kontrolü, Bölüm 3.3.1'de ifade edilen TLC uygulaması şeklinde olup oda sıcaklığında kurutulan şeritler yapışkan bir bantla kaplanarak orijinden itibaren 0.5 cm parçalar halinde kesilmiştir ve her bir parçanın aktivitesi Cd(Te) dedektörü ile sayılmıştır. TLRC banyo çözeltisi olarak SF kullanılmıştır.  $^{99m}\text{Tc}$  ile işaretli bileşenlerin,  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ve İnd.  $^{99m}\text{Tc}$  'a ait Rf değerlerini içeren Çizelge 4.5'de yer almaktadır. TLRC kromatogramları ise sırasıyla Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7'dir. TLRC banyosu olarak SF çözeltisi yanısıra; aseton, aseton-su (9:1), ACD, kloroform-sikloheksan-TEA-etanol (25:20:5:1), etanol-su (7:3), merkaptanetanollü çözeltiler de kalite kontrol çalışmaları için banyo çözeltisi olarak denenmiştir.

### 3.7 n-Octanol /Su Oranın Bulunması (Lipofilite)

Lipofilite maddenin yağda çözünme eğiliminin ölçüsüdür ve lipid / su oranı şeklinde partisyon katsayısı olarak ifade edilir. Bu katsayı ne kadar büyükse; maddenin lipid membrandan absorpsiyonu o kadar fazla olur (Özyazgan, 2002). Kimyasal bileşikler için yağ, petrol, lipid ve hekzan, toluen, oktanol gibi apolar çözügenlerde çözünme yeteneğini gösterir (Theobald, 1989).

Bir santrifüj tüpüne eşit oranlarda n-oktanol ve pH = 7 tamponu koyulduktan sonra <sup>99m</sup>Tc ile işaretli örnekten 0.1 mL alınarak bu karışıma ilave edilip önce 1 dakika vortekslenerek 2500 rpm'de 30 dakika santrifüjlenmiştir (Zhang and Wang, 2001). Santrifüj sonrasında fazlara ayrılan bu karışımın üst ve alt fazlarından 100'er µL alınarak aktiviteleri Cd(Te) dedektörü ile sayılmıştır. Aynı işlemler üç kez tekrarlanmıştır. Elde edilen deneysel ve teorik sonuçlar 4. Bölüm'de yer almaktadır.

### 3.8 Serumda Stabilité

Serumda işaretli bileşiğin davranışı izlenmiştir. Bu amaçla <sup>99m</sup>Tc-TOR-DTPA'dan 100 µL (10 µg) alınıp 300 µL kan serumuna eklenmiş ve 24 saat 37 °C'de inkübe edilmiştir. Belirli zaman aralıkları ile örnekler alınmış ve TLRC yöntemi ile işaretli bileşiğin kan serumundaki seyri izlenmiştir. Bu bölüme ait deneysel çalışma üç kez tekrarlanmıştır. Bu çalışmaya ait sonuçlar 4. Bölüm'de bulunmaktadır.

### 3.9 Dişi Albino Wistar Sıçanlar Üzerinde Yapılan Biyodağılım Çalışmaları

Biyodağılım için 18 adet dişi Albino Wistar sıçan kullanılmıştır. 1 mL (100 µg) TOR-DTPA alınıp üzerine 40 µL Tween-80 ve 100 µL kalay klorür çözeltisi (1 mg SnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O / 1 mL 0.1 M HCl) ilave edilmiştir. Çözeltinin pH değeri 1 M NaOH ile 5'e ayarlanarak 0.6 mL 740 MBq (20 mCi) <sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> ilave edilmiş ve 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edilerek işaretleme reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu çözelti 0.22 µm'lik steril milipor filtreden geçirilmiş ve kullanıma hazır hale getirilmiştir. Sıçanların yarısına reseptör doyurma işlemi yapılmış, diğer yarısına ise yapılmamıştır. Her hayvana kuyruk veninden 0.2 mL (4 µg) <sup>99m</sup>Tc ile işaretli TOR-DTPA enjekte edilmiştir. Reseptör doyurma yapılanların herbirine ise 0.2 mL (40 µg) ekstrakte edilmiş saf TOR bileşiği enjekte edildikten 15 dakika sonra <sup>99m</sup>Tc ile işaretli TOR-DTPA enjekte edilmiştir.

Enjeksiyon öncesinde ve sonrasında enjektör aktiviteleri Cd(Te) dedektörü ile sayılmıştır. Sıçanlar 30., 60. ve 240. dakika sonunda eter ortamında sakrifiye edilerek önceden daraları alınmış olan küçük kaplar içerisine belirlenen organlar alınmıştır. Her organa ait tartım değeri ve aktiviteleri Cd(Te) dedektörü ile ikişer kez alınmıştır. Aktivitelerinin ortalamaları alınmış ve her bir organ için gram başına düşen doz değerleri (% ID / g) hesaplanmıştır. Bu veriler kullanılarak Excel programında zamana karşı biyodağılım grafikleri elde edilmiştir.

### 3.10 İstatistik Analizler

Biyodağılım çalışmaları sonucunda elde edilen veriler SPSS 13 programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla tüm verilerin varyans analizleri (Univariate Variance Analyses) yapılmış ve uygulanan işaretli bileşik ile organlar arasındaki ilişki Pearson Korelasyonu uygulanarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme sonuçlarına ilişkin bilgiler 4. Bölüm'de bulunmaktadır.

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

##### 4.1 İnaktif Bileşenler (TOR, DTPA, TOR-DTPA) için Kullanılan Kromatografik Yöntem Sonuçları

###### 4.1.1 TLC yöntemi ile elde edilen $R_f$ sonuçları

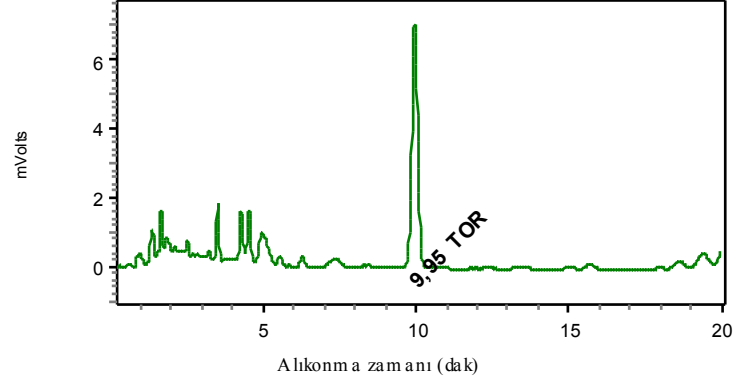
Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi sentez ürünü olan TOR-DTPA’nın  $R_f$  değerinin TOR ve DTPA’nın  $R_f$  değerlerinden farklı olması sentez reaksiyonunun gerçekleştiğini göstermektedir.

Çizelge 4.1 TOR, DTPA ve TOR-DTPA bileşiklerinin aseton : su (9 : 1) çözeltilisindeki  $R_f$  değerleri.

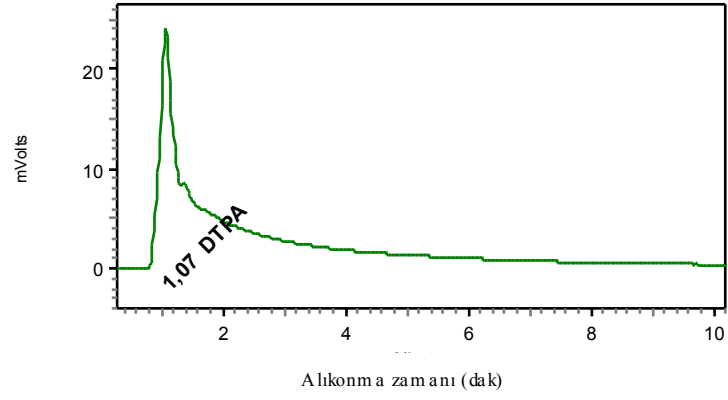
Bileşik	$R_f$ değeri
TOR	0.98
DTPA	0.00
TOR-DTPA	0.21

###### 4.1.2 HPLC yöntemi ile elde edilen kromatogramlar

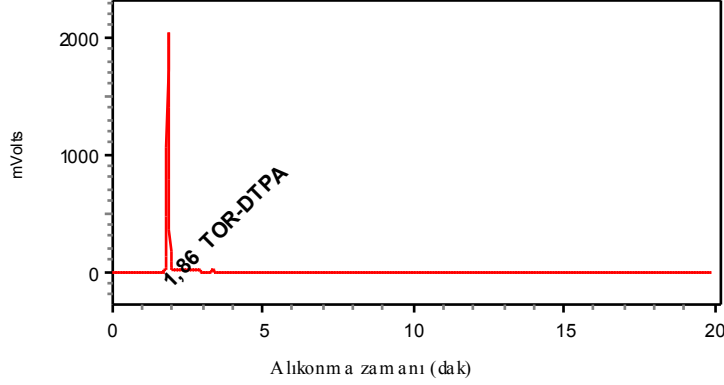
TOR, DTPA ve TOR-DTPA bileşiklerine ilişkin HPLC kromatogramları Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3’de görülmektedir.



Şekil 4.1 TOR bileşiğinin HPLC kromatogramı.



Şekil 4.2 DTPA bileşiğinin HPLC kromatogramı.



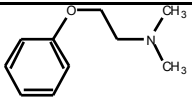
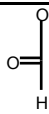
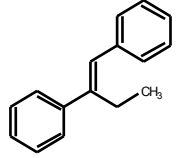

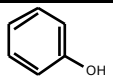
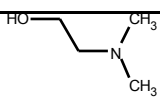
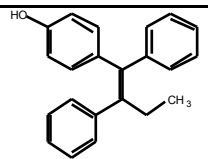
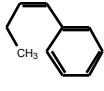
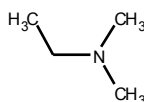
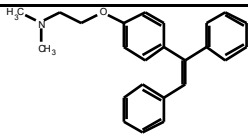
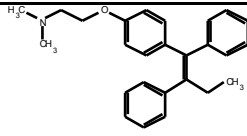

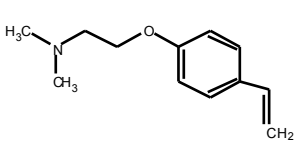
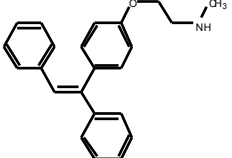
Şekil 4.3 TOR-DTPA bileşiğinin HPLC kromatogramı.

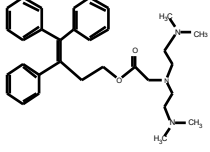
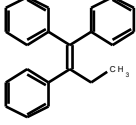
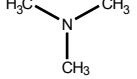
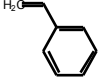
280 nm’de UV dedektöründen alınan HPLC kromatogramları incelendiğinde, başlangıç maddesi olarak kullanılan TOR bileşiğinin 3. Bölüm’de belirtilen koşullardaki  $R_t$  (Alıkonma Zamanı) değeri 9.95 dakika, DTPA bileşiğinin ise 1.07 dakika olarak saptanmıştır. Sentez sonrası oluşan TOR-DTPA bileşiğinin ise 1.86 dakikadır. Buradan sentezin gerçekleştiği sonucu desteklenmektedir.

#### 4.2 Moleküler Yapının Belirlenmesi

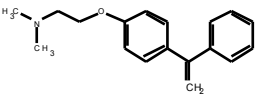
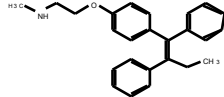
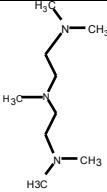
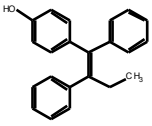
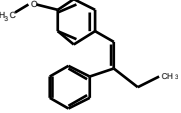
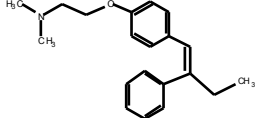
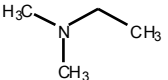
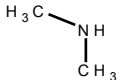
TOR-DTPA bileşiğinin molekül yapısının belirlenmesi için GC- MS / MS spektrumu alınmıştır. Çizelge 4.2’de ise TOR-DTPA bileşiğine ve çeşitli fragmanlara ait GC – MS / MS spektrumlarındaki gözlenen  $m / z$  değerleri verilmiştir (m: kütle, z: yük).

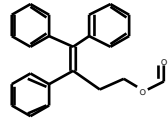
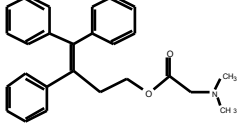
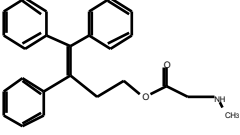
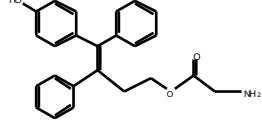
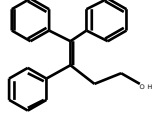
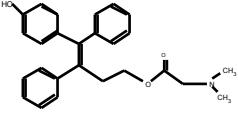
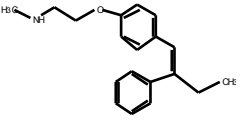
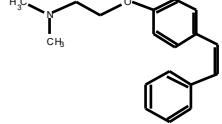
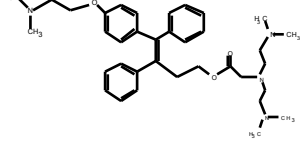
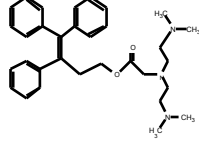
Çizelge 4.2 TOR-DTPA bileşiğine ve çeşitli fragmanlara ait GC – MS/MS spektrumlarındaki gözlenen m / z değerleri.

	Fragman	m/z		Fragman	m/z
1		165.23	2		46.02
2		208.29	2		78.12
3		94.11	2		89.13
4		300.39	2		132.20
5		73.13	2		343.46
6		371.51	2		40.06
7		191.26	2		329.43

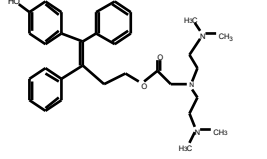
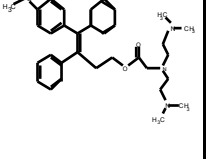
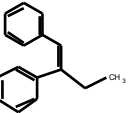
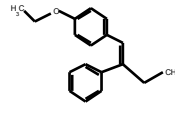
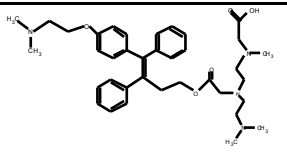
8		499.68	2		284.39
9		59.11	3		104.14

Çizelge 4.2 (devamı)

	Fragman	m/z		Fragman	m/z
10		267.36	31		357.48
11		173.29	32		300.39
12		238.32	33		295.41
13		73.13	34		45.08

14		328.40	35		385.49
15		371.47	36		373.44
16		300.39	37		401.49
17		281.39	38		267.36
18		586.80	39		499.68

Çizelge 4.2 (devamı)

	Fragman	m/z		Fragman	m/z
19.		515.6 8	40.		529. 71
20.		208.2 9	41.		252. 35
21.		630.8 1			

### 4.3. Radyoışaretili Bileşiklerin Kalite Kontrol Sonuçları

#### 4.3.1 Kağıt elektroforezi ile elde edilen sonuçlar

İşaretili bileşiklere ve radyoaktif bileşenlere ait elektroforez sonuçları Çizelge 4.3’de yer almaktadır. Banyo çözeltisi olarak SF kullanılmış olup, bileşiklerin ilerleme mesafeleri cm cinsinden verilmiştir. Maddelerin uygulama noktası 24 cm’lik Whatman kağıtlarının orta noktası yani 12. cm olup, pozitif kutup 12 cm’den sıfıra doğru, negatif kutup ise 12 cm’den 24’e doğrudur.

Sonuçlardan da görüleceği üzere  $^{99m}\text{Tc-DTPA}$  ve  $^{99m}\text{Tc-TOR-DTPA}$ ’nın her ikisi de  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  ile pozitif kutuba doğru ilerlediği için negatif yüklü oldukları sonucuna varılmaktadır.

Çizelge 4.3 Elektroforez sonuçları.

Banyo Çözeltisi	<sup>99m</sup> Tc- DTPA	<sup>99m</sup> Tc- TOR- DTPA	<sup>99m</sup> TcO 4	İnd. <sup>99m</sup> Tc
SF	8	9	10	12

#### 4.3.2 TLRC ile elde edilen sonuçlar

TLRC yönteminde kullanılan banyo çözeltileri Çizelge 4.4'de görülmektedir. İşaretli bileşiklere ve radyoaktif bileşenlere ait R<sub>f</sub> değerleri Çizelge 4.5'de yer almaktadır. Kromatogramlar ise Şekil 4.5, 4.6 ve Şekil 4.7'de görülmektedir.

Çizelge 4.4 TLRC banyo çözeltileri.

	Banyo Çözeltisi
TLRC- 1	SF
TLRC- 2	Etanol:Su (7:3)
TLRC- 3	Aseton
TLRC- 4	Aseton (9:1)
TLRC- 5	Anti koagulan sitrat dekstroz çözeltisi (ACD)
TLRC- 6	0.2 M Potasyum fosfat, 2 mM Merkaptanetanol, 0.4 % Triton X100 (pH = 7)
TLRC- 7	Kloroform:Sikloheksan:Tea:Etanol (25:20:5:1)

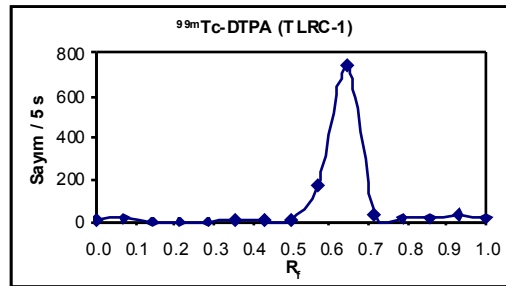
Çizelge 4.5 R<sub>f</sub> değerleri.

Banyo Çözeltisi	*R <sub>f</sub>			
	<sup>99m</sup> Tc- DTPA	<sup>99m</sup> Tc-TOR- DTPA	<sup>99m</sup> TcO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	İnd. <sup>99m</sup> Tc
TLRC-1	0.64	1.00	0.93	0.07
TLRC-2	0.60	1.00	0.91	0.00
TLRC-3	0.00	1.00	1.00	0.08
TLRC-4	0.21	1.00	1.00	0.07
TLRC-5	0.64	1.00	1.00	1.00
TLRC-6	0.93	1.00	1.00	0.00
TLRC-7	0.07	0.07	0.07	0.07

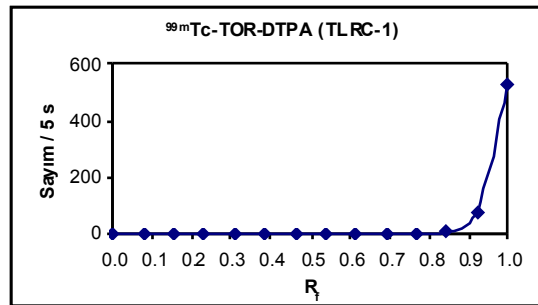
(\* Silikajel TLC plakaları)

Çizelge 4.5'de de görüldüğü gibi TLRC-7 banyo çözeltisinde hiçbir bileşen yürümemiştir. TLRC-6 banyosunda ise İnd. <sup>99m</sup>Tc dışındaki diğer bileşikler fronta kadar yürümüştür. TLRC-5 banyosunda ise <sup>99m</sup>Tc ile işaretli DTPA dışındaki tüm maddeler yine fronta yürümüştür. Bu banyolarda her bir bileşen için farklı R<sub>f</sub> değerleri elde edilmediğinden bu banyoların bizim bileşenlerimiz ve işaretli maddelerimiz için ayırt edici olmadığı sonucuna varılmıştır. TLRC-3 ve TLRC-4 banyolarında ise <sup>99m</sup>Tc ile işaretli TOR-DTPA ile perteknatat arasında bir ayırım yapılamadığından bu çözeltilerin de kalite kontrol için uygun TLRC banyo çözeltisi olmadıkları sonucuna ulaşılmıştır.

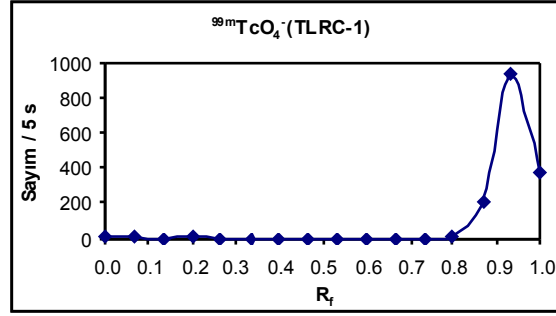
Çizelge 4.5 incelendiğinde en iyi banyo çözeltisinin TLRC-1 olduğu görülmektedir. Bu banyoda işaretli bileşik diğer tüm bileşenlerinden farklı  $R_f$  değerine sahiptir. TLRC-1 banyo çözeltisinde perteknatat ile  $^{99m}\text{Tc}$  ile işaretli TOR-DTPA  $R_f$  değerlerinin birbirine yakın olduğu düşünülerek alternatif olarak TLRC-2 banyosu kullanılmıştır. Bu banyoda da aynı sonuca ulaşıldığından işaretli bileşiğin kalite kontrollerinde iki banyo paralel olarak kullanılarak daha güvenilir sonuçlar elde edilmiştir. TLRC kromatogramlarından yararlanarak işaretli bileşiğe ilişkin pikin toplam alanına karşıt gelen sayımlar, toplam sayıma bölünerek işaretli bileşiğin bağlanma verimi bulunmuştur. Buna göre TLRC-1 banyo çözeltisinde elde edilen sonuçların ortalaması alındığında bağlanma verimi  $\% 98.07 \pm 2.17$ , TLRC-2 banyo çözeltisinde ise  $\% 97.91 \pm 0.53$  ( $n = 13$ ) olarak saptanmıştır.



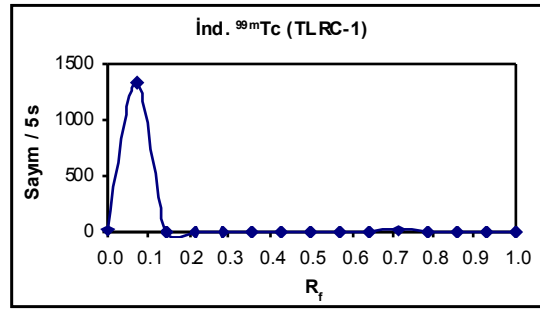
Şekil 4.4  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA bileşiğinin TLRC-1 çözeltisi kullanılarak elde edilen kromatogramı.



Şekil 4.5  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin TLRC-1 çözeltisi kullanılarak elde edilen kromatogramı.



Şekil 4.6  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 'ün TLRC-1 çözeltisi kullanılarak elde edilen kromatogramı



Şekil 4.7 İnd  $^{99m}\text{Tc}$ 'nin TLRC-1 çözeltisi kullanılarak elde edilen kromatogramı.

#### 4.4 n-Octanol / Su oranı (Lipofilite) sonuçları

$^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin deneysel olarak  $\log P$  değeri  $-2.04 \pm 0.74$  ( $n = 3$ ) olarak bulunmuştur. Çizelge 4.6'da DTPA, TOR ve TOR-DTPA bileşenlerinin teorik  $\log P$  değerleri ACD /  $\log P$  Algorithm programına göre verilmiştir. Bir bileşiğin  $\log P$  değeri ACD programına göre teorik olarak yüksüz moleküller için hesaplanabilmektedir.

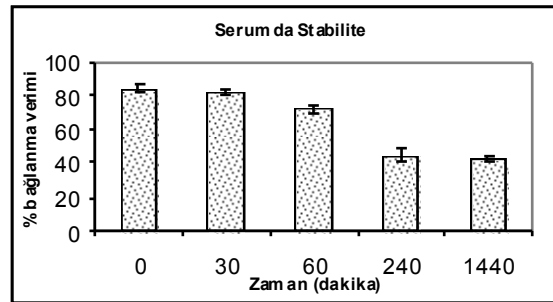
Çizelge 4.6 Bileşiklerin  $\log P$  değerleri.

Bileşik	Teorik logP	Deneysel logP
TOR	7.81 ± 0.75	----
DTPA	-2.08 ± 0.86	----
TOR-DTPA	5.51 ± 1.15	----
<sup>99m</sup> Tc-TOR-DTPA	----	-2.04 ± 0.74

Çizelge 4.6'da verilen değerlere göre TOR-DTPA için ACD programına göre teorik lipofilite değeri TOR'dan düşük DTPA'dan yüksek bulunmuştur. Bu beklenen bir sonuçtur, çünkü DTPA hidrofilik bir gruptur, dolayısıyla bağlandığı yapının lipofilitesini düşürecektir. Bu çıkarım Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3'deki HPLC kromatogramlarınca da desteklenmektedir. <sup>99m</sup>Tc-TOR-DTPA ise anyonik yapıda olduğu için teorik lipofilite değeri hesaplanamamış olup, deneysel sonuç değerlendirildiğinde işaretli bileşiğin lipofilitesi TOR bileşiğinden düşük DTPA bileşiğine ise yakın olduğu görülmüştür.

#### 4.5. Serumda stabilite sonuçları

<sup>99m</sup>Tc radyonüklidi ile işaretlenen TOR-DTPA bileşiğinin 37 °C'de insan kan serumundaki davranışını içeren grafik Şekil 4.8'de görülmektedir. Burada görüldüğü gibi işaretli bileşiğin bir saatin sonunda verimi % 70'in üzerindedir. TLRC yöntemi uygulanarak radyo işaretli bileşiğin % 42 oranında 24 saat boyunca kararlı olduğu görülmektedir.



Şekil 4.8  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin serumda stabilitesi.

#### 4.6 Dişi Albino Wistar sıçanlar üzerinde yapılan biyodağılım çalışmalarının sonuçları

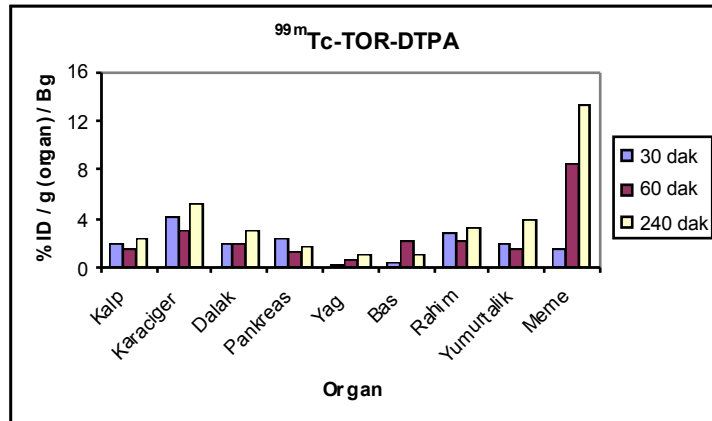
##### 4.6.1 Sıçanlar üzerinde reseptör doyurma çalışmasının yapılmadığı (reseptörsüz) biyodağılım sonuçları ( $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA)

Çizelge 4.7’de  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğine ait organlardaki gram başına enjekte edilen doz (% ID / g) değerinin kas dokusuna (Bg, background) ait % ID / g değere oranı görülmektedir. Şekil 4.9’da ise ER’lerce zengin dokulardaki % ID / g – Bg oranı görülmektedir.

Çizelge 4.7 Albino Wistar sıçanlarda  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin % ID / g (organ) - Bg oranı verileri.

% ID / g (organ) - Bg oranı	30 Dak.	60 Dak.	240 Dak.
Kalp	2.09 ± 0.66	1.41 ± 0.44	2.52 ± 0.48
Akciğer	6.45 ± 1.89	3.20 ± 1.62	3.90 ± 1.26
Karaciğer	4.16 ± 1.29	3.00 ± 1.33	5.24 ± 3.24

Böbrek	3.62 ± 0.34	3.75 ± 1.34	16.71 ± 4.25
İ. Bağırsak	3.20 ± 0.21	4.31 ± 0.08	21.73 ± 8.22
K. Bağırsak	3.25 ± 0.98	2.11 ± 1.31	29.81 ± 11.66
Mide	90.06 ± 15.99	69.50 ± 11.51	130.35 ± 43.37
Dalak	1.91 ± 0.03	1.99 ± 0.31	3.06 ± 1.84
Pankreas	2.51 ± 1.22	1.37 ± 0.28	1.75 ± 0.01
Kas	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
Rahim	2.72 ± 0.95	2.23 ± 0.07	3.28 ± 0.70
Yumurtalık	2.03 ± 0.40	1.46 ± 0.03	3.87 ± 0.75
Meme	1.60 ± 0.20	8.45 ± 0.06	13.19 ± 0.54
Yağ	0.26 ± 0.10	0.64 ± 0.11	1.14 ± 0.56
Tiroid	3.67 ± 0.69	4.75 ± 1.41	6.89 ± 2.50
Mesane	9.08 ± 3.29	8.98 ± 0.86	32.24 ± 23.42
Beyin	0.44 ± 0.07	2.25 ± 1.56	1.02 ± 0.05
Kan	2.71 ± 0.60	16.52 ± 8.50	3.73 ± 1.84



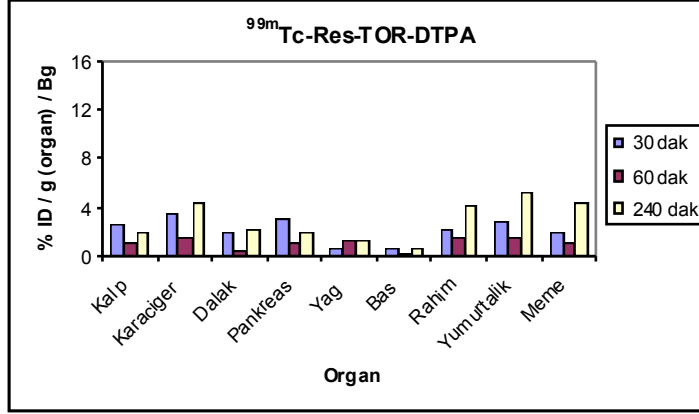
Şekil 4.9  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşimine ait ER'lerce zengin dokulardaki % ID / g – Bg oranı.

#### **4.6.2 Sıçanlar üzerinde reseptör doyurma çalışmasının yapıldığı (reseptörlü) biyodağılım sonuçları ( $^{99m}\text{Tc}$ -Res-TOR-DTPA)**

Çizelge 4.8'de reseptör doyurma işleminden sonra verilen  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşimine ait ( $^{99m}\text{Tc}$ -Res-TOR-DTPA) organlardaki gram başına enjekte edilen doz (% ID / g) değerinin kas dokusuna (Bg, background) ait % ID / g değere oranı görülmektedir. Şekil 4.10'da ise ER'lerce zengin dokulardaki % ID / g – Bg oranı görülmektedir.

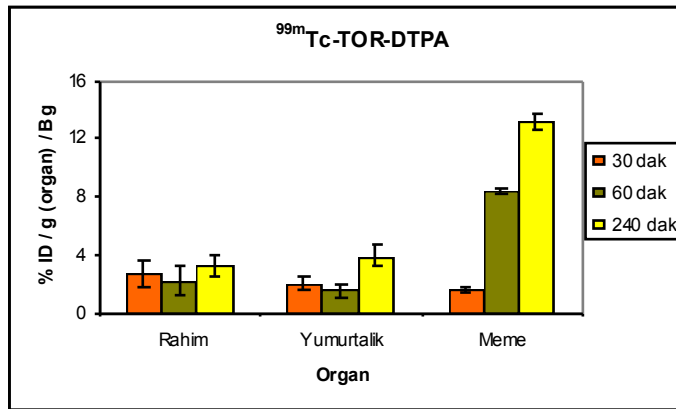
Çizelge 4.8 Albino Wistar sıçanlarda  $^{99m}\text{Tc}$ -Res-TOR-DTPA bileşiğinin % ID / g (organ) - Bg oranı verileri.

% ID / g (organ) - Bg oranı	30 Dak.	60 Dak.	240 Dak.
Kalp	2.51 ± 0.99	1.00 ± 0.79	2.00 ± 0.53
Akciğer	6.81 ± 1.47	2.08 ± 0.69	4.82 ± 2.00
Karaciğer	3.47 ± 0.16	1.62 ± 0.51	4.30 ± 1.16
Böbrek	2.86 ± 0.77	1.41 ± 0.72	14.98 ± 5.38
İ. Bağırsak	5.56 ± 2.57	1.00 ± 0.25	3.12 ± 2.43
K. Bağırsak	1.73 ± 0.48	0.76 ± 0.29	12.92 ± 4.67
Mide	79.50 ± 2.61	36.33 ± 21.46	96.78 ± 85.51
Dalak	2.06 ± 0.72	0.42 ± 0.14	2.07 ± 0.71
Pankreas	3.01 ± 0.76	0.95 ± 0.31	1.91 ± 0.53
Kas	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
Rahim	2.28 ± 0.99	1.61 ± 1.01	4.14 ± 1.50
Yumurtalık	2.80 ± 1.06	1.63 ± 0.43	5.23 ± 0.98
Meme	1.96 ± 0.80	1.05 ± 0.36	4.26 ± 0.29
Yağ	0.63 ± 0.01	1.25 ± 0.30	1.22 ± 0.23
Tiroid	4.76 ± 0.39	2.54 ± 1.40	2.23 ± 1.59
Mesane	6.53 ± 0.68	1.72 ± 0.68	9.50 ± 0.81
Beyin	0.57 ± 0.24	0.13 ± 0.05	0.67 ± 0.25
Kan	3.32 ± 0.72	0.95 ± 0.33	3.03 ± 0.91

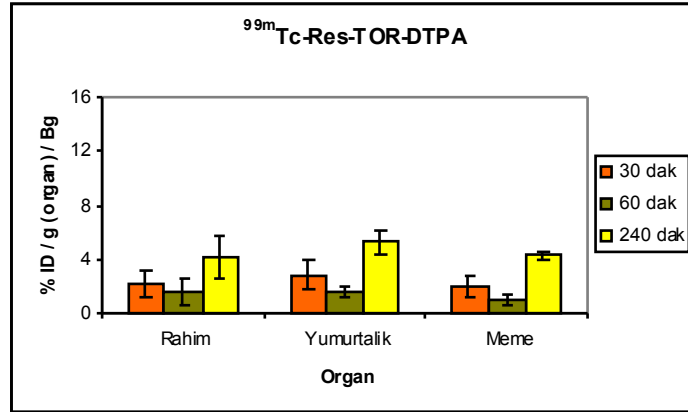


Şekil 4.10  $^{99m}\text{Tc}$ -Res-TOR-DTPA bileşiğine ait ER'lerce zengin dokulardaki % ID / g – Bg oranı

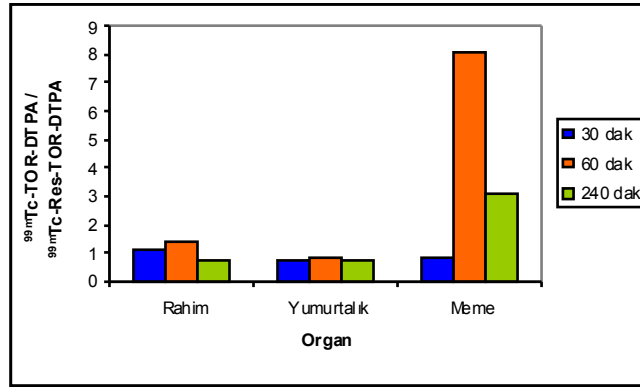
ER'lerin olduğu bilinen organları içeren Şekil 4.9, 4.10 ve Çizelge 4.7, 4.8 incelendiğinde reseptörlü ve reseptörsüz çalışmalar kıyaslandığında  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin çarpıcı bir şekilde meme dokusuna spesifik olduğu görülmektedir. SPSS 13 istatistik programı ile yapılan varyans analizi de bu sonucu doğrulamaktadır ( $p < 0.05$ ). Şekil 4.11 ve 4.12'de ise  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin reseptör doyurulmamış ve doyurulmuş biyodağılım çalışmalarında rahim, yumurtalık ve memedeki zamanla tutulum değerleri standart sapmalarıyla birlikte görülmektedir.



Şekil 4.11  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin rahim, yumurtalık ve meme dokularındaki % ID / g – Bg oranının zamanla değişimi.



Şekil 4.12  $^{99m}\text{Tc}$ -Res-TOR-DTPA bileşiğinin rahim, yumurtalık ve meme dokularındaki % ID / g – Bg oranının zamanla değişimi.



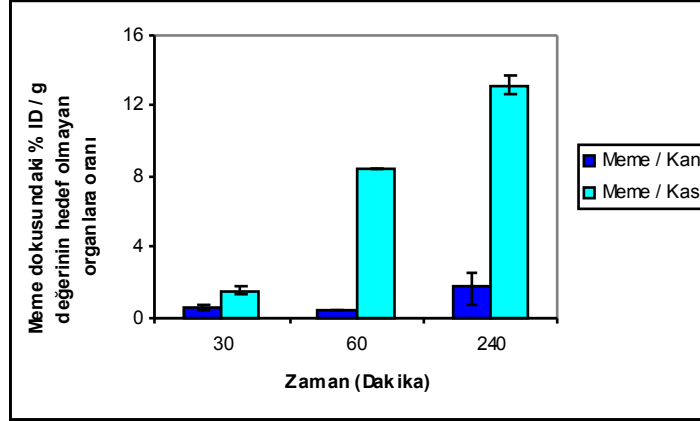
Şekil 4.13 Rahim, yumurtalık ve meme dokularındaki reseptörsüz ve reseptörlü  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğine ait % ID / g – Bg oranı.

Şekil 4.11 ve 4.12 incelendiğinde ER'lerince zengin organlar olan rahim ve yumurtalık için reseptörlü ve reseptörsüz çalışma sonuçları arasında belirgin bir fark yoktur. Oysaki 60. ve 240. dakikalarda meme dokusunda  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-

DTPA bileşiği ile  $^{99m}\text{Tc}$ -Res-TOR-DTPA tutulum oranları bu dakikalarda sırasıyla 8 ve 3 kat kadar yüksektir. Şekil 4.13’de bu dokuya ilişkin 60. ve 240. dakikalardaki yüksek tutulum reseptörsüz ve reseptörlü çalışmalara ait % ID / g – Bg değerlerine ait oran görülmektedir. Literatüre göre de TOR bileşiğinin TAM’a göre karaciğer ve rahimde estrojenik etkisinin daha düşük, memede ise antiestrojenik etkisinin daha yüksek olduğu bilinmektedir (Kangas et al., 1989; Sipila et al., 1990; Soe et al., 1997; DeGregorio et al., 2000; Shibutani et al., 2001; Kim et al., 2003; IBCSG, 2004). Bizim çalışmamızda da  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin memede potansiyel bir antiestrojenik etkiye, rahimde ise oldukça zayıf estrojenik etkiye sahip olduğu görülmüştür.

4-hidroksiTAM, TAM, trioksifen, LY117018, LY139481 gibi antiestrojenlerin TAM bileşiğine göre rahimde daha az estrojenik aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir. Bunun nedeni ise kısa biyolojik yarı ömre sahip olmalarıdır (Di Salle et al., 1990). TOR bileşiğinin sıçandaki biyolojik yarı ömrü 14 saat olarak hesaplanmış ve bu sürenin sıçan serumunda kararlı hale ulaşması ve dışkı ile atılması için yeterli olduğu görülmüştür (Sipila et al., 1990). Bizim çalışmamızda  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA için ise deneysel olarak hesaplanan biyolojik yarı ömür yaklaşık 132 dakika olarak yapıda DTPA olmasından dolayı daha düşük bulunmuştur. Bu durum; işaretli bileşiğimiz için rahimde daha az estrojenik etki demektir.

Silva ve arkadaşlarının değindiği gibi hedef organ tutulumu ile hedef olmayan organ tutulumu arasındaki fark, görüntüleme için gerekli olan kontrastın sağlanmasından sorumludur. Radyoaktivite oranı (hedef organın hedef olmayan organa oranı) bu farkı verdiği için tutulum seçiciliğinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Delpassand, 1996; Silva et al., 2001). Memedeki dağılım ile hedef olmayan organlar (kan ve kas) arasındaki oran Şekil 4.14’de görülmektedir.



Şekil 4.14  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin meme dokusundaki % ID / g değerinin hedef olmayan (kan ve kas) organlara oranı.

Bu şekle göre 60. dakikada meme dokusuna ait % ID / g değerinin hedef olmayan dokulara oranı yaklaşık 20'dir. 240. dakikada ise bu oran yaklaşık olarak 8'dir. Serumdaki stabilite çalışmaları  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin bu zaman dilimleri içerisinde özellikle birinci saatin sonunda % 70 kararlı olduğunu göstererek bu sonuçları desteklemektedir. Silva ve arkadaşları (Silva et al., 2001)  $Z[^{125}\text{I}]\text{IVDE}$  ( $[^{125}\text{I}](\text{Z})$ -3-methoxy-17a-iodovinylestra-1,3,5(10),6-tetraen-17b-ol) bileşiği için bu oranı uterusu 1 – 3 olarak 24. saatte, Müftüler ve arkadaşları (Müftüler v.d., 2008)  $^{131}\text{I}$ -TAM bileşiği için 30 dakikada, ve Enginar ve grubu (Enginar v.d., 2005) estrogen türevi iki bileşik için ise 60. dakikada bulmuşlardır.

Radyoişaretli bileşiğin vücuttan atılımı gastrointestinal sistem, mesane yanı sıra yapıda DTPA olduğu için enjeksiyondan 4 saat sonra böbrekler vasıtası ile de gerçekleştiği görülmektedir (Çizelge 4.7 ve 4.8). Pillai ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada karboksilik asid grupları içeren komplekslerin hidrofilik hale geldiği ve böbrek yoluyla temizlenme gösterdiği sonucuna varmıştır (Pillai et al., 1999). Bir diğer çalışmada ise  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA kompleksinin karaciğer ve

böbreklerde tutulumunun yüksek olduğu bilinmektedir (Chen et al., 2005). Hidrofobik TAM'a göre hidrofilik TAM analoglarının karaciğer ve akciğer tutulumu daha azdır (Delpassand, 1996). Bizim çalışmamızda  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA ve  $^{99m}\text{Tc}$ -Res-TOR-DTPA bileşikleri için akciğer ve karaciğer tutulumları tüm çalışma periyodu içerisinde düşük olup, önemli bir değişim göstermemektedir. Bu sonuç  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiği için iyi bir görüntüleme ajanı olabirliliğini sunmaktadır.

Midede önemli bir tutulum beklenmemesine rağmen diğer organlara kıyasla hem reseptör doyurma yapıldığında hemde yapılmadığında yüksek bir tutulumla karşılaşmıştır ve bu durum 4. saate kadar artarak devam etmiştir. Ancak midedeki tutulum reseptörlü ve reseptörsüz biyodağılım çalışmaları birbirinden çok farklı olmadığı için işaretli bileşiğin bu doku için ER spesifik olmadığı düşünülmektedir. Buradaki yüksek tutulum nedeniyle meme dokusu yanısıra mide için görüntüleme ajanı olarak kullanılabilir. Ayrıca midede androjen ve estrogen gibi seks steroid hormonlarının varlığı da bilinmektedir (Kon, 1983; Winborn et al., 1987; Ciocca and Vargas., 1995). Yüksek mide tutulumuna estrogen türevleri ile yapılan bazı radyo işaretli çalışmalarda da rastlanmıştır (Kon, 1983; Unak v.d., 2002; Enginar v.d., 2004, 2005, baskıda; Müftüler v.d., 2008).

#### **4.7 İstatistik Analiz Sonuçları**

Biyodağılım sonucu elde edilen verilerin istatistiksel analizleri (Univariate Variance Analyses) SPSS 13 programı kullanılarak yapılmıştır.  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA ve  $^{99m}\text{Tc}$ -Res-TOR-DTPA bileşiği için organlar arasında Pearson korelasyonu uygulanmıştır. Pearson korelasyonuna göre işaretli bileşiklerin tutulumları ile organlar arasında bir ilişki tanımlanmaktadır. Anlamlılık düzeyi (P) değeri ile ifade edilecek olursa  $P < 0.05$  değeri anlamlı olarak kabul

edilmiştir. Özellikle meme ile böbrek, yumurtalık, ince bağırsak, kalın bağırsak, tiroid ve mesane arasında mevcut istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık söz konusudur. Herbir organ için yapılan varyans analizi sonucuna göre organlardaki tutulumun reseptör doyurma işlemi ile ilişkisine bakıldığında ince bağırsak, kalın bağırsak, meme, tiroid, mesane, baş ve kan için istatistiksel bir fark söz konusudur ( $P < 0.05$ ). Organ - süre ilişkisine bakıldığında ise akciğer, böbrek, ince bağırsak, kalın bağırsak, pankreas, yumurtalık, meme, mesane ve kan için istatistiksel bir fark söz konusudur ( $P < 0.05$ ). Çizelge 4.9’da görüleceği üzere varyans analiz sonuçlarına bakıldığında reseptör doyurma işlemi özellikle meme için önemli derecede istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P = 0.003$ ). Gastrointestinal sistemdeki reseptör ile ilişkinin yanı sıra özellikle süre ile ilişkideki istatistiksel anlamlılık ise biyodağılım sonuçlarından da görüleceği üzere zaman ile bir değişim söz konusudur.

Çizelge 4.9 Varyans analizi sonucuna göre bazı organlara ait reseptör ile ilişkilerine ilişkin P ve r (korelasyon katsayısı) değerleri.

Organ	P Değeri	r Değeri
İ. Bağırsak	0.003	0.844
K. Bağırsak	0.034	0.847
Mesane	0.045	0.592
Meme	0.003	0.650

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

TOR bileşiği ile DTPA'nın konjugasyonu sonucu oluşan TOR-DTPA, TLC ve HPLC analizleri ile desteklenmektedir. GS – MS / MS ile yapı analiz sonuçları moleküler yapının beklenildiği gibi olduğunu göstermiştir.

Sentezlenen antiestrogen türevi ligandın  $^{99m}\text{Tc}$  ile kalay klorür indirgeme metodu ile yüksek verimle işaretlenebilir olduğu görülmüştür. İşaretleme verimi  $\% 98.07 \pm 2.17$  olarak bulunmuştur. Serumda stabilite çalışması ile de  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiğinin  $37^\circ\text{C}$ 'de çalışma süresince kararlı olduğu görülmüştür. Lipofilite değerlerine bakıldığında; oluşan  $^{99m}\text{Tc}$ -TOR-DTPA bileşiği DTPA içeriğinden dolayı TOR bileşiğine göre daha hidrofilik yapıdadır. Dolayısıyla, bileşiğin lipofilitesi bünyesindeki hidrofilik gruptan dolayı TOR bileşiğinden düşük çıkmıştır.

İşaretli bileşiğin estrogen reseptörlerince zengin dokular olarak bilinen meme dokusu için estrogen reseptör spesifik olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu sonuç istatistiksel analizlerle de desteklenmiştir.

Sonuç olarak; yapılan çalışmalar  $^{99m}\text{Tc}$  radyonüklidi ile işaretli sentez bileşiğinin meme kanseri ER+ tümörlerini görüntülemeye yeni bir antiestrogen türevi hidrofilik radyoligand olarak kullanılabilirliğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ahuja, S.**, 2006, High-pressure liquid chromatography, *Comprehensive Analytical Chemistry*, 47(15): 485 – 559 p.
- Ankara Ticaret Odası**, 2006, “Kanser Yüğü 2006” Raporu Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu ve Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü ortaklığı.
- Argonne National Laboratory, EVS**, 2005, Technetium, *Human Health Fact Sheet*.
- Aydoğdu, N.**, 2005, Postmenopozdaki Kadınlarda Düşük Dozlu Hormon Replasman Tedavisi ve Raloksifen’in Kan Biyokimyası ve Kupperman İndeksi Üzerine Etkileri, uzmanlık tezi, *T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfü Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği*.
- Boring, C.C., Squires, T.S., Tong, T**, 1993, Cancer statistics 1993, *C A. Cancer Journal for Clinicians*, 43: 7 - 26.
- Chen, Y., Huang, W. Z., He, L., Zheng, S. L., Li, J. L., and Qin, D. L.**, 2006, Synthesis and evaluation of a technetium-99m-labeled diethylenetriamine pentaacetate-deoxyglucose complex ( $[^{99m}\text{Tc}]\text{-DTPA-DG}$ ) as a potential imaging modality for tumors, *applied Radiation and Isotopes*, 64: 342 - 347 p.
- Ciocca, D.R. and Vargas, L.M.**, 1995, Estrogen Receptors in Human Nontarget Tissues: Biological and Clinical Implications, *Endocrine Review*, 16 (1): 35 – 62 p.

- Costa, G. G. da, Hamilton, L. P. M., Heflich, R. H, Marques, M. M. and Beland, F. A.,** 2001, DNA adduct formation and mutant induction in Sprague-Dawley rats treated with tamoxifen and its derivatives, *Carcinogenesis*, 22(8): 1307 – 1315 p.
- Decensi, A., Fontana, V., Bruno, S., Gustavino, C., Gatteschi B., and Costa, A.,** 1996, Effect of tamoxifen on endometrial proliferation, *Journal of Clinical Oncology*, (Abstract) 14: 434 – 440 p.
- DeGregorio, M. W., Wurz, G. T., Taras T. L., Erkkola, R.U. and Halonen, K.H.,** 2000, Pharmacokinetics of (deaminohydroxy) toremifene in humans: A new, selective estrogen-receptor modulator, *European Journal of Clinical Pharmacol*, 56: 469 – 475 p.
- Delpassand, S. E., Yang, J. D., Wallace, S., Cherif, A., Quadri, M. S., Price, J., Joubert, A., Inoue, T. and Podoloff, A. D.,** 1996, Synthesis, Biodistribution and Estrogen Receptor Scintigraphy of Indium-111-Diethylenetriamine pentaacetic Acid-Tamoxifen Analogue, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85(6), 553 – 559 p.
- De Vos, F., Van DeWiele, C., Vandecapelle, M., Dierckx, R. A. and Slegers, G.,** 2001, High Performance Liquid Chromatographic Determination of I-123 Labeled Tamoxifen Metabolites in Human Plasma, *Nuclear Medicine and Biology*, 28: 335 – 338 p.
- Di Salle, E., Zaccheo, T. and Ornati, G.,** 1990, Antiestrogenic and antitumor properties of the new triphenylethylene derivative toremifene in the rat, *Journal of Steroid Biochemistry*, 36(3): 203 – 206 p.
- EMA, 2005, Toremifene, Scientific Discussion.**

- Enginar, H., Unak, P., Lambrecht, F. Y. and Biber, F. Z.**, 2004, Synthesis of a  $^{99m}\text{Tc}$  labelled estrogen derivative and determination of its radiopharmaceutical potential on rats, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 260(2): 339 – 349 p.
- Enginar, H., Unak, P., Lambrecht, F.Y., Biber, F.Z., Medine, I.E. and Cetinkaya, B.**, 2005, Synthesis of  $^{131}\text{I}$ -labeled estrone derivatives and biodistribution studies on rats, *Journal of Radioanalytical Nuclear Chemistry*, 264: 535 – 539 p.
- Enginar, H., Unak, P., Lambrecht, F. Y., Biber, F. Z. and Medine, E. I.**, in press 2007, Synthesis and Biodistribution Studies of Two Novel Radiolabeled Estrone Derivatives.
- Fabian, C., Sternson, L., El-Serafi, M., Cain, L. and Hearne E.**, 1981, Clinical Pharmacology of Tamoxifen in Patients with Breast Cancer: Correlation with Clinical Data, *American Cancer Society*, 48: 876 – 882 p.
- Grenman, R., Laine, K. M., Klemi, P. J., Grenman, S., Hayashida, D. J. S. and Joensuu, H.**, 1991, Effects of anti estrogen tor on growth of the human mammary carcinoma cell line MCF-7, *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 117: 223 – 226 p.
- Grillini, P. M.**, 2006, Thin-layer chromatography, *Comprehensive Analytical Chemistry*, 47(13): 413 – 442 p.

- Gunderson, S.**, 1990, Toremifene, a new antiestrogenic compound in the treatment of metastatic mammary cancer. A phase II study, *Journal of Steroid Biochemistry*, 36(3): 233 – 234 p.
- Guyton, A. C. and Hall, J. E.**, 2001, Textbook of Medical Physiology, Tıbbi Fizyoloji, 10. baskı, çeviri, *Nobel Tıp Kitapları ve Yüce Yayınevi*, 836 – 966 s.
- Gündüz, T.**, 1999, Instrümental Analiz, Gazi Kitapevi, 5. Baskı, 1115 – 1273 s.
- Harvey, H. A., Kimura, M. and Hajba, A.**, 2006, Toremifene: An evaluation of its safety profile, *The Breast*, 15(2): 142 – 157 p.
- Haydaroğlu, A., Dubova, S., Öz saran, Z., Bölükbaşı, Y., Yılmaz, R., Kapkaç, M. ve Özd edeli, E.**, 2005, Ege Üniversitesinde Meme Kanseri: 3897 Olgunun Değerlendirilmesi, *Meme Sağlığı Dergisi*, 1(1).
- Heikkilä, M. M.**, 2001, Estrogen Replacement Therapy And Antiestrogen Treatment In Postmenopausal Breast Cancer Patients – Effects On Recurrence, Gynecological Organs, Vascular Endothelium, And Bone, *Helsinki University*.
- Hunter, D. H. and Luyt, L. G.**, 2000, Single Isomer Technetium-99m Tamoxifen Congu gates, *Bioconjugate Chemistry*, 11(2): 175 - 181 p.
- John, B. A., Brodie, R. R., Baldock, G. A., McBurney, A., Chasseaud, L. F., Jank, P. and Von Nieciecki, A.**, 2002, Pharmacokinetics and metabolism of the anti-oestrogen droloxifene in female human subjects, *Xenobiotica*, 32(8): 699 – 713 p.

- Jones, M. R. and Kim, C. K.**, 2002, Toremifene metabolism in rat, mouse and human liver microsomes: Identification of  $\alpha$ -hydroxytoremifene by LC-MS, *Biomedical Chromatography*, 16: 361 – 363 p.
- Kalan, A.**, 2005, Tamoksifen Kullanan Meme Kanseri Hastalarının Endometrium Patolojileri Açısından Değerlendirilmesinde Transvajinal Ultrasonografi, Histeroskopi Ve Endometrial Biyopsinin Yeri, Uzmanlık Tezi, *T. C. Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi I. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği*, İstanbul.
- Kangas, L., Haaparanta, M., Paul, R., Roeda, D. and Sipila, H.**, 1989, Biodistribution and Scintigraphy of  $^{11}\text{C}$ -Toremifene in rats bearing DMBA-induced mammary carcinoma, *Pharmacology and Toxicology*, 64: 373 – 377 p.
- Kangas, L.**, 1990, Review of the pharmacological properties of toremifene, *Journal of Steroid Biochemistry*, 36(3): 191 – 195 p.
- Kedjouar, B., Médina, P., Oulad-Abdelghani, M., Payré, B., Silvente-Poirot, S., Favre, G., Faye, J., Poirot, M.**, 2004, Molecular characterization of the microsomal tamoxifen binding site, *Journal of Biology and Chemistry*, 279(32): 34048 – 34061 p.
- Kim, S. Y., Suziki, N., Laxmi, Y. R. S., Rieger, R. and Shibutani, S.**, 2003,  $\alpha$ -Hydroxylation of Tamoxifen and Toremifene by Human and Rat Cytochrome P450 3A Subfamily Enzymes, *Chemical Research of Toxicology*, 16: 1138 – 1144 p.
- Kon, O. L.**, 1983, An Antiestrogen-binding Protein in Human Tissues, *The Journal of Biological Chemistry*, 258(5): 3173 – 3177 p.

**Kruijer, P. S., Klok, R. P., van den Koedijk, C. D. M. A., Blankenstein, M. A., Voskuil, J. H., Verzeijlbergen, J. F., Ensing, J. G. and Hercheid, J. D. M.,** 1997, Biodistribution of  $^{123}\text{I}$ -Labeled 4-Hydroxytamoxifen Derivatives in Rats with Dimethylbenzanthracene-Induced Mammary Carcinomas, *Nuclear Medicine and Biology*, 24: 719 – 722 p.

**Kivinen, S. and Maenpaa, J.,** 1990, Effect of toremifene on clinical chemistry hematology and hormone levels at different doses in healthy postmenopausal volunteers phase I study, *Journal of Steroid Biochemistry*, 36(3): 217 – 220 p.

**Lashley, M. R., Niedzinski, E. J., Rogers, J. M., Denison, M. S. and Nantz, M. H.,** 2002, Synthesis and Estrogen Receptor Affinity of a 4-Hydroxytamoxifen-Labeled Ligand for Diagnostic Imaging, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 10: 4075 – 4082 p.

**Love, R. R., Mazess, R. B., Barden, H. S., Mazess, R. B., Epstein, S. and Chappell, R. J.,** 1994, Effects of tamoxifen on lumbar spine bone mineral density in postmenopausal women after 5 years, *Archive of Internal Medicine*, (Abstract) 154: 2585 – 2588 p.

**Maenpaa, J., Soderstrom, Gronroos, M., Taina, E., Hajba, A. and Kangas, L.,** 1990, Effect of toremifene on estrogen primed vaginal mucosa in postmenopausal women, *Journal of Steroid Biochemistry*, 36(3): 221 – 223 p.

**Martin, E. A., Brown, K., Gaskell, M., Al-Azzawi, F., Garner, R. C., Boocock, D. J., Mattock, E., Pring, D. W., Dingley, K., Turteltaub, K. W., Smith, L. L. and White, I. N. H.,** 2003, Tamoxifen DNA Damage

Detected in Human Endometrium Using Accelerator Mass Spectrometry, *Cancer Research*, 63: 8461 – 8465 p.

**McDonnell, P. D.**, 1999, The Molecular Pharmacology of SERMs, *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 10(8): 301 – 311 p.

**Mihailescu, R., Enien, H. Y. A. and Eftstatide M. D.**, 2000, Identification of tamoxifen and metabolites in human male urine by GC / MS, *Biomedical Chromatography*, 14: 180 – 183 p.

**Modig, H., Borgström, S., Nilsson and Westman, G.**, 1990, Phase II clinical study of toremifene in patients with metastatic breast cancer. Preliminary communication, *Journal of Steroid Biochemistry*, 36(3): 235 – 236 p.

**Morillon, C., Be, M. M., Chechev, V. and Egorov, A.**, 2004, <sup>99m</sup>Tc Comments on evaluation of decay data.

**Muftuler, B. F. Z., Unak, P., Teksoz, S., Acar, C., Yolcular, S. and Yürekli, Y.**, 2008, <sup>131</sup>I Labeling of Tamoxifen and biodistribution studies in rats, *Applied Radiation and Isotopes*.

#### KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

**Niklas, H., Simberg, J., Murai, T. and Sitreri, P. K.**, 1990., *In vitro* and *In vivo* Binding of Toremifene and its metabolites in rat uterus, *Journal of Steroid Biochemistry*, 36(3): 197 – 202 p.

**Pillai, M. R. A., Kothari, K., Banerjee, S., Samuel, G., Suresh, M., Sarma, H. D. and Jurisson**, 1999, Radiochemical Studies of <sup>99m</sup>Tc Complexes of Modified Cysteine Ligands and Bifunctional Chelating Agents, *Nuclear Medicine and Biology*, 26: 555 – 561 p.

**Özyazgan, S.**, 2002, Toksikokinetik, *Zehirlenmeler Sempozyum Dizisi*, 32: 9 – 19 s.

**Pukkala, E., Kyyrönen, P., Sankila, R. and Holli, K.**, 2002, Tamoxifen and Toremifene Treatment of Breast Cancer and Risk of Subsequent Endometrial Cancer: A Population-Based Case-Control Study, *International Journal of Cancer*, 100: 337 – 341 p.

**Savaş, N.**, 2006, Halk Sağlığı Hatay İl Sağlık Müdürlüğü Kanser-Dünyada ve Türkiye’de Kanser Kanser Nedir Risk Faktörleri Korunma.

**Shibutani, S., Ravindernath, A., Terashima, I., Suziki, N., Laxmi, Y. R. S., Kanno, Y., Suziki, M., Apak, T. I., Sheng, J. J. and Duffel M. W.**, 2001, Mechanism of Lower Genotoxicity of Toremifene Compared with Tamoxifen, *Cancer Research*, 61: 3925 – 3931 p.

**Silva, M. C., Luciana, P., Gano, L., Melo, M. L. S a e, Inohae, E., Shuntaro, M. and Thiemann, T.**, 2001, Synthesis and biological evaluation of two new radiolabelled estrogens: [125I](E)-3-methoxy-17a-iodovinylestra-1,3,5(10),6-tetraen-17b-ol and [125I](Z)-3-methoxy-17a-iodovinylestra-1,3,5(10),6-tetraen-17b-ol, *Applied Radiation Isotopes*, 54: 227 – 239 p.

**Simberg, N. H., Murai, J. T. and Sittreii, P. K.**, 1990, In vitro and in Vivo Binding of Toremifene and its metabolites in rat uterus, *Journal of Steroid Biochemistry*, 36(3): 197 – 202 p.

**Sipila, H., Kangas, L., Vuorilehto, L., Kalapudas, A., Eloranta, M., Sodervall, M., Toivola, R. and Anttila, M.**, 1990, Metabolism of Toremifene in the rat, *Journal of Steroid Biochemistry*, 36(3): 211 – 215 p.

- Sipila, H., Nanto, V., Kangas, L., Anttila, M. and Halme, T.,** 1988, Binding Toremifene to Human Serum Proteins, *Pharmacology and Toxicology*, 63: 62 – 64 p.
- Skaddan, M. B., Wüst, F. R., Jonson, S., Syhre, R., Welch, J. M., Spies, H. and Katzenellenbogen J. A.,** 2000, Radiochemical Synthesis and Tissue Distribution of Tc-99m-Labeled 7 $\alpha$ -Substituted Estradiol Complexes, *Nuclear Medicine and Biology*, 27: 269 – 778 p.
- Skoog, D. A. and West, D. M.,** 1998, Fundamentals of Analytical Chemistry, 2. Baskı Türkçe çeviri.
- Strickland, L. A., Ponce, Y. Z., Hunter, D. H., Zabel, P. L., Powe, J. E., Morrisey, G., Driedger, A. A. and Chamberlain, M. J.,** 1990, Amino and Iodotamoxifens: Synthesis, Estrogen Receptör Affinity and Biodistribution, *Drug Design and Delivery*, 6: 195 – 212 p.
- Soe, L., Wurz, G. T., Maenpaa, J. U., Hubbard, G. B., Cadman, T. B., Wiebe, V. J. and DeGregorio, M. W.,** 1997, Tissue distribution of transdermal toremifene, *Cancer Chemother Pharmacol*, 39: 513 – 520 p.
- Szamel, I., Vincze, B., Hindy, S., Fronius, S. K., Eckhardt, S., Maenpaa, J., Gronroos, M., Kangas, L., Sundquist, H. and Hajba, A.,** 1990. Hormonal Effects of Toremifene in Breast Cancer Patients, *Journal of Steroid Biochemistry*, 36(3): 243 – 247 p.
- Theobald, A. E.,** 1989, Radipharmaeuticals using radioactive compounds in pharmaceutics and Medicine, *Ellis Horwood Edition*.

**Unak, P., Enginar, H., Biber, F. Z., Lambrecht, F. Y., Aslani, M. A. A. and Ozkilig, H.,** 2002, A correlative study between  $^{99m}\text{Tc}$ -ESTCPTA and  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI in rats, *Applied Radiation and Isotopes*, 57: 733 – 742 p.

**Ünak P.,** 2003, Ulusal Radyofarmasi Kursu Ders Notları, Bölüm I.

**Valavaara, R., Pyrhönen, S., Heikkinen, M., P., Rissanen, Blanco, G., Nordman, P., Taskinen, P., Holsti, L. R. and Hajba, A.,** 1990, Safety and efficacy of toremifene in breast cancer patients. A phase II study, *Journal of Steroid Biochemistry*, 36(3): 229 – 231 p.

**Van DeWiele C., De Vos F., Sutter J. D., Slegers G., Dierckx R. A. and Thierens H.,** 1999, Biodistribution and Dosimetry of (Iodine-123)-iodomethyl-N,N-diethyltamoxifen, an (anti) oestrogen Reseptor Radioligand, *European Journal of Nuclear. Medicine*, 26: 1259 - 1264).

**Van DeWiele, C., De Vos, F., Slegers, G., Van Belle, S. and Dierckx, R. A.,** 2000, Radiolabelled Estradiol Derivatives to Predict Response to Hormonal Treatment In Breast Cancer : A Review 14-28, *Review article*, *European Journal of Nuclear Medicine*, 27: 1421 - 1433 p.

**Van DeWiele, C., Cocquyt, V., VanddenBroecke, R., De Vos, P., Van Belle, S., Dhaene, K., Slegers, G. and Diercks, R. A.,** 2001, Iodine labeled tamoxifen uptake in primary human breast carcinoma, *Journal of Nuclear Medicine*, 42: 1818 – 1820 p.

**White, I. N. H., Martin, E. A., Mauthe, R. J., Vogel, J., S., Turteltaub, K., W. and Smith, L.L.,** 1997, Comparisons of The Binding of [ $^{14}\text{C}$ ] Radiolabelled Tamoxifen or Toremifene to Rat DNA Using Accelerator

Mass Spectrometry, [\*Chemico-Biological Interactions\*](#), (Abstract) 106: 49 - 160 p.,

**Winborn, W. B., Sheridan, P. J. and McGill, H. C.,** 1987, Sex steroid in the stomach, liver, pancreas, and gastrointestinal tract of the baboon, *Gastroenterology*, (Abstract) 92(1): 23 – 32 p.

**Young, H., Carnochan, P., Trivedi, M., Potter, G. A., Eccles, S. A., Haynes, B. P., Jarman, M. and Ott, R. J.,** 1995, Pharmacokinetics and Biodistribution of Radiolabeled Idoxifene Prospects for the Use of Pet in The Evaluation of A Novel Antiestrogen For Cancer Therapy, *Nuclear Medicine and Biology*, 22(4): 405 – 411 p.

**Zhang, Junbo and Wang, X.,** 2000, Synthesis of  $^{99m}\text{TcN}(\text{IPDTC})_2$  and its biodistribution in mice, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 249(3): 573 – 576 p.

<http://www.accessscience.com/>

<http://www.bookrags.com/>

<http://www.kanseroloji.com/kanser-nedir/>

<http://www.nci.nih.gov>

## **ÖZGEÇMİŞ**

Adı Soyadı : Ayfer Yurt

Doğum Yeri : Güzelyurt / K.K.T.C.

Doğum Yılı : 16-07-1985

### **Öğrenim Durumu:**

Lisans: 2002 – 2006 Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü

Yüksek Lisans: 2006 - Ege Üniversitesi Nükleer Bilimler Enstitüsü